This is a digital copy of a book that was preserved for generations on library shelves before it was carefully scanned by Google as part of a project to make the world's books discoverable online.

It has survived long enough for the copyright to expire and the book to enter the public domain. A public domain book is one that was never subject to copyright or whose legal copyright term has expired. Whether a book is in the public domain may vary country to country. Public domain books are our gateways to the past, representing a wealth of history, culture and knowledge that's often difficult to discover.

Marks, notations and other marginalia present in the original volume will appear in this file - a reminder of this book's long journey from the publisher to a library and finally to you.

**Usage guidelines**

Google is proud to partner with libraries to digitize public domain materials and make them widely accessible. Public domain books belong to the public and we are merely their custodians. Nevertheless, this work is expensive, so in order to keep providing this resource, we have taken steps to prevent abuse by commercial parties, including placing technical restrictions on automated querying.

We also ask that you:

+ *Make non-commercial use of the files* We designed Google Book Search for use by individuals, and we request that you use these files for personal, non-commercial purposes.
+ *Refrain from automated querying* Do not send automated queries of any sort to Google's system: If you are conducting research on machine translation, optical character recognition or other areas where access to a large amount of text is helpful, please contact us. We encourage the use of public domain materials for these purposes and may be able to help.
+ *Maintain attribution* The Google "watermark" you see on each file is essential for informing people about this project and helping them find additional materials through Google Book Search. Please do not remove it.
+ *Keep it legal* Whatever your use, remember that you are responsible for ensuring that what you are doing is legal. Do not assume that just because we believe a book is in the public domain for users in the United States, that the work is also in the public domain for users in other countries. Whether a book is still in copyright varies from country to country, and we can't offer guidance on whether any specific use of any specific book is allowed. Please do not assume that a book's appearance in Google Book Search means it can be used in any manner anywhere in the world. Copyright infringement liability can be quite severe.

**About Google Book Search**

Google's mission is to organize the world's information and to make it universally accessible and useful. Google Book Search helps readers discover the world's books while helping authors and publishers reach new audiences. You can search through the full text of this book on the web at `http://books.google.com/`

**Informazioni su questo libro**

Si tratta della copia digitale di un libro che per generazioni è stato conservata negli scaffali di una biblioteca prima di essere digitalizzato da Google nell'ambito del progetto volto a rendere disponibili online i libri di tutto il mondo.

Ha sopravvissuto abbastanza per non essere più protetto dai diritti di copyright e diventare di pubblico dominio. Un libro di pubblico dominio è un libro che non è mai stato protetto dal copyright o i cui termini legali di copyright sono scaduti. La classificazione di un libro come di pubblico dominio può variare da paese a paese. I libri di pubblico dominio sono l'anello di congiunzione con il passato, rappresentano un patrimonio storico, culturale e di conoscenza spesso difficile da scoprire.

Commenti, note e altre annotazioni a margine presenti nel volume originale compariranno in questo file, come testimonianza del lungo viaggio percorso dal libro, dall'editore originale alla biblioteca, per giungere fino a te.

**Linee guide per l'utilizzo**

Google è orgoglioso di essere il partner delle biblioteche per digitalizzare i materiali di pubblico dominio e renderli universalmente disponibili. I libri di pubblico dominio appartengono al pubblico e noi ne siamo solamente i custodi. Tuttavia questo lavoro è oneroso, pertanto, per poter continuare ad offrire questo servizio abbiamo preso alcune iniziative per impedire l'utilizzo illecito da parte di soggetti commerciali, compresa l'imposizione di restrizioni sull'invio di query automatizzate.

Inoltre ti chiediamo di:

+ *Non fare un uso commerciale di questi file* Abbiamo concepito Google Ricerca Libri per l'uso da parte dei singoli utenti privati e ti chiediamo di utilizzare questi file per uso personale e non a fini commerciali.

+ *Non inviare query automatizzate* Non inviare a Google query automatizzate di alcun tipo. Se stai effettuando delle ricerche nel campo della traduzione automatica, del riconoscimento ottico dei caratteri (OCR) o in altri campi dove necessiti di utilizzare grandi quantità di testo, ti invitiamo a contattarci. Incoraggiamo l'uso dei materiali di pubblico dominio per questi scopi e potremmo esserti di aiuto.

+ *Conserva la filigrana* La "filigrana" (watermark) di Google che compare in ciascun file è essenziale per informare gli utenti su questo progetto e aiutarli a trovare materiali aggiuntivi tramite Google Ricerca Libri. Non rimuoverla.

+ *Fanne un uso legale* Indipendentemente dall'utilizzo che ne farai, ricordati che è tua responsabilità accertati di farne un uso legale. Non dare per scontato che, poiché un libro è di pubblico dominio per gli utenti degli Stati Uniti, sia di pubblico dominio anche per gli utenti di altri paesi. I criteri che stabiliscono se un libro è protetto da copyright variano da Paese a Paese e non possiamo offrire indicazioni se un determinato uso del libro è consentito. Non dare per scontato che poiché un libro compare in Google Ricerca Libri ciò significhi che può essere utilizzato in qualsiasi modo e in qualsiasi Paese del mondo. Le sanzioni per le violazioni del copyright possono essere molto severe.

**Informazioni su Google Ricerca Libri**

La missione di Google è organizzare le informazioni a livello mondiale e renderle universalmente accessibili e fruibili. Google Ricerca Libri aiuta i lettori a scoprire i libri di tutto il mondo e consente ad autori ed editori di raggiungere un pubblico più ampio. Puoi effettuare una ricerca sul Web nell'intero testo di questo libro da `http://books.google.com`

# LO SPERIMENTALE

—

ARCHIVIO DI BIOLOGIA NORMALE E PATOLOGICA

# LO SPERIMENTALE

## ARCHIVIO DI BIOLOGIA NORMALE E PATOLOGICA

COMITATO DI DIREZIONE:

BANTI Prof. Guido
BUFALINI Prof. Giovanni — CHIARUGI Prof. Giulio
FANO Prof. Giulio — LUSTIG Prof. Alessandro
ROSTER Prof. Giorgio

Anno LVI

FIRENZE
SOCIETÀ TIPOGRAFICA FIORENTINA
VIA SAN GALLO, N. 33

1902

Proprietà letteraria

Dall'Istituto di Patologia Generale del R. Istituto di Studi Superiori in Firenze
diretto dal Prof. A. Lustig.

# SU DI UN MICRORGANISMO PATOGENO

## ISOLATO DAL « MUREX BRODATUS ».

### CONTRIBUTO ALLA CONOSCENZA DELLE INFEZIONI ALIMENTARI

DEI

**PROF. G. GALEOTTI E DOTT. E. ZARDO.**

Le ricerche di cui tratteremo nella presente nota si riconnettono ai numerosissimi lavori, esistenti nella letteratura delle malattie infettive, che riguardano infezioni ed intossicazioni, provocate dall'ingestione di alimenti corrotti — (carni di mammiferi, pesci) — o di certi molluschi — (mitili, ostriche).

Queste forme morbose, che in genere si rivelano clinicamente con disturbi gravissimi del tubo gastroenterico e di certi apparecchi nervosi, e anatomo-patologicamente con lesioni circolatorie, degenerative e necrotiche dello stomaco, dell'intestino e di altri visceri, sono state indicate con vari nomi, come quelli di *Botulismo*, *Mitilismo*, *Ictiosismo*, ecc.

Una grande confusione regna però nella determinazione e nella classificazione di queste varie forme morbose, specialmente per riguardo ai loro momenti etiologici.

A fine di portare un po' di chiarezza su tal questione, crediamo opportuno di riunire nella seguente tabella i principali dati, che abbiamo potuto raccogliere nella letteratura.

| Autore | Materiale infetto | Sintomi clinici della malattia | Esito della malattia |
|---|---|---|---|
| Levy (1). | Carne di un Restaurant in Strassburgo. | Febbre, vomito, diarrea sanguinolenta. | — |
| Schattenmann (2). | Salsiccia e carne da macello alterata. | — | — |
| Glücksmann (3). | Carne di porco affumicata. | — | Un ammalato morì, un altro guarì. |
| Jaeger (4). | Salsiccia andata a male. | — | Mortalità 80 %. |
| Pfuhl (5). | Salsiccia di vitello. | Catarro di stomaco. Diarrea. | Tutti gli ammalati (81 in numero) guarirono. |
| Van Ermengem (6, 7). | Prosciutto. | Sintomi di gastroenterite; oftalmoplegie (ptosi, midriasi, paralisi di accomodazione, diplopia, strabismo). Alterazioni della secrezione salivare. Disturbi della circolazione e della respirazione. In fine paralisi bulbare. | Alcuni ammalati morirono: in altri restarono alterazioni nervose per parecchi mesi. |
| Kempner (8) | Fecce di porco. | — | — |

| Reperti istologici e anatomopatologici | Bacteri | Prodotti tossici | Esperienze sugli animali |
|---|---|---|---|
| Enterite emorragica. | Proteus vulgaris di Hauser. | Sepsina? | I topi infettati morirono per enterite emorragica. |
| — | Proteus di Hauser e altri bacteri. | — | — |
| — | Proteus vulgaris. | — | I topi infettati con la coltura morirono. |
| — | Proteus flourescens. | — | — |
| Negli animali. Infiammazione della mucosa intestinale. Milza e fegato ingrossati. | Proteus mirabilis. | I filtrati sono poco tossici. Molto tossiche sono invece le sostanze contenute nelle culture batteriche. | Gli animali nutriti con la salsiccia morirono. Anche ammalarono e morirono dei pesci rossi, tenuti in acqua contenente questo proteo. |
| Iperemia ed emorragie nel rene e nel cervello. Degenerazione grassa del fegato. Iperemia e catarro desquamativo dello stomaco. Miocardite. Degenerazione grassa delle ghiandole salivari. Lesioni delle cellule del cervello e del midollo spinale. | B. Botulinus. Bacillo con 4-8 flagelli. Anaerobio. Forma spore. Colonie rotonde a margini mobili. Fluidifica la gelatina. Produce gas che odorano di acido butirrico. Ottimo di temp. sotto a 35°. La temp. del corpo è già sfavorevole. | Gli estratti del prosciutto, sterilizzati per filtrazione, uccidono gli animali, e son molto tossici. Le toxine sono analoghe a quella del Tetano. | Topi e scimmie si ammalarono dopo aver mangiato il prosciutto infetto. Così pure colombi, gatti, conigli e cavie per iniezioni di estratto del prosciutto. Polli e cani rimasero refrattari. |
| — | B. Botulinus. | I filtrati delle colture son molto tossici. | Gli animali, infettati con le colture, rapidamente morirono. Così pure quelli trattati con gli estratti delle feci. K. riuscì ad immunizzare alcuni animali e a ricavare un siero curativo contro il Botulismo. |

| Autore | Materiale infetto | Sintomi clinici della malattia | Esito della malattia |
|---|---|---|---|
| Kempner e Pollack (9). | — | — | — |
| Brieger e Kempner (10). | — | — | — |
| Barszczewski (11). | — | — | — |
| Charrin e Bordier (12). | — | — | — |
| Römer (13). | Prosciutto. | Disturbi della vista e specialmente dell'accomodazione. Disturbi nella secrezione della saliva. | Guarigione. |
| Hermann (14). | — | Sintomi di gastroenterite grave. | — |
| Forssmann (15). | — | Negli animali. Paralisi, disturbi circolatori e respiratori. | — |

| Reperti istologici e anatomopatologici | Bacteri | Prodotti tossici | Esperienze sugli animali |
|---|---|---|---|
| Negli animali. Completa distruzione delle cellule delle corna anteriori. | B. Botulinus. | Ricavarono la Botulismotoxina. | Gli animali trattati con la toxina morirono con fenomi nervosi considerevoli. |
| — | B. Botulinus. | Dal filtrato delle colture ricavarono, per precipitazioni con cloruro di zinco, una sostanza tossica, analoga alla toxina difterica. | — |
| — | B. Botulinus. | Le toxine sono analoghe a quelle della difterite e del tetano. | Infezioni e intossicazioni nei gatti. |
| — | — | La toxina somiglia alla piocianina e alla toxina difterica. Resiste a 70°-85° e alla pepsina. | Esperienze cardiografiche nei conigli dopo l'iniezione di toxina nelle vene. |
| — | B. Botulinus. | I filtrati delle colture son tossici. | Topi e cavie furono infettati, facendo loro mangiare il prosciutto o mediante colture o intossicati con filtrati. |
| — | B. Botulinus. | — | Le colture uccisero topi e cavie con segni di gastroenterite. |
| — | B. Botulinus. | — | Studiò sperimentalmente le intossicazioni negli animali. La toxina uccide gli animali se introdotta nello stomaco o nel tenue: non li uccide se introdotta nel cieco o nel crasso. |

| Autore | Materiale infetto | Sintomi clinici della malattia | Esito della malattia |
|---|---|---|---|
| Gärtner (16). | Carne di una vacca ammalata. | Vomito, diarrea, forte febbre, sonnolenza, vertigini. | Di 58 ammalati uno morì e gli altri guarirono. |
| Karlinski (17). | Carne secca. | Malessere, diarrea, vomito di sangue, dolori di corpo, febbre, convulsioni cloniche, midriasi. | Guarigione (un solo caso). |
| Günther (18). | Carne, salsiccia e sangue di porco. | Sintomi di gastroenterite. | Di vari ammalati uno morì. |
| Barker (19). | Corned beef. | Vomito, diarrea, febbre. | Di 24 casi uno fu seguito da morte. |
| Känsche (20). | Carne di vacca. | Vomito, diarrea, febbre, eruzioni erpetiche. | Delle 80 persone ammalate, nessuna morì. |
| Scheef (21). | Salsiccia di fegato. | Febbre, diarrea, vomito, dolori muscolari, cefalea. | Guarigione di tutti i casi (150). |
| Basenau (22). | Carne di 6 vitelli ammalati. | — | — |
| Arustimoff (23). | Salmoni. Storioni. | Debolezza, dolori di ventre, difficoltà di respiro, midriasi, diplopia, afonia, alterazioni circolatorie. | Di 11 casi 5 morirono e 6 guarirono. |
| Gaffky e Paak (24). | Carne di cavallo e salsiccia. | Gastroenterite, forte febbre. | Di 80 ammalati uno morì. |

| Reperti istologici e anatomopatologici | Bacteri | Prodotti tossici | Esperienze sugli animali |
|---|---|---|---|
| Arrossamento dell'intestino, emorragie nello stomaco e nell'intestino, rigonfiamento dei follicoli e delle placche del Peyer. | B enteritidis. Corti bastoncini mobili, con estremità arrotondate, più colorabili. Non resiste al Gram. Non fluidifica la gelatina. Si sviluppa su tutti i soliti terreni. | Il bacillo produce un veleno specifico, poichè le colture sterilizzate o gli estratti sterili di carni infette producono la morte degli animali, con gli stessi sintomi che dominano nelle infezioni. | Topi, conigli, cavie, infettati sottocute o nel peritoneo, morirono con i sintomi di un'enterite emorragica. |
| — | B. enteritidis di Gärtner. | — | 4 capre e 1 pecora, iniettate nelle vene, morirono con sintomi di enterite. |
| Gravi alterazioni dell'intestino. | B. enteritidis. | — | — |
| — | B. enteritidis di Gärtner. | — | — |
| Negli animali: enterite, tumore di milza. | Bacillo simile a quello di Gärtner. Differisce per lo sviluppo in gelatina. | — | Vari animali, infettati sottocute, nelle vene o nel peritoneo, rapidamente morirono. |
| — | Streptococchi. B coli. B. enteritidis di Gärtner. | — | — |
| — | Bacteri simili al B. coli. | — | Infezioni nei topi. |
| — | Quattro specie di bacilli lunghi 1 ½-2 μ, mobili, fluidificanti la gelatina. Non resistono al Gram. | — | I conigli, infettati con le colture, morirono rapidamente. Cani e gatti si ammalarono, ma poi guarirono. |
| Caratteri di una grave enterite. Negli animali: enterite emorragica con ulcerazioni, ascessi nella milza. | B. Friedebergensis. Bacilli mobili. Non resistono al Gram. Si sviluppano anche a temp. molto bassa. Crescono su tutti i comuni terreni di cultura. | — | Patogeno per via sottocutanea o endovenosa per topi, cavie, conigli. Per la via dello stomaco patogeno per topi, cavie, scimmie, cani e gatti. Non patogeno per il porco. |

| Autore | Materiale infetto | Sintomi clinici della malattia | Esito della malattia |
|---|---|---|---|
| Poels e Dhont (24 bis.). | Carne da macello. | Sintomi intestinali, febbre. | — |
| Virchow (25). | Mitili. | Disturbi nervosi di vario genere, paralisi, vomito, stato algido. | Esito fatale di 4 su 9 casi. |
| Cameron (26). | Mitili. | Vomito, dispnea, paralisi. | Di 6 ammalati 4 morirono. |
| Rendu (27). | Mitili. | Febbre, fenomeni di gastrite, eruzione erpetica. | Guarigione (un solo caso). |
| Brosch (28). | Ostriche. | Vomiti, nausea, vertigini, disturbi visivi, midriasi, disfagia, paralisi. | Morte (un solo caso). |
| Casey (29). | Ostriche. | Vomiti, nausea, vertigini, disfagia, disturbi circolatori, paralisi. | Morte (un solo caso). |
| Lustig (30). | Mitili (una specie tossica per l'uomo). | — | — |

| Reperti istologici e anatomopatologici | Bacteri | Prodotti tossici | Esperienze sugli animali |
|---|---|---|---|
| Nei bovini, sperimentalmente infettati, si trovarono lesioni dello stomaco e dell'intestino. | Bacillo lungo 1-3 μ, mobile. Non resiste al Gram. Non fluidifica la gelatina. | — | Per iniezioni morirono, soltanto i topi in 18-48 ore. Per lo stomaco in 4-5 giorni. Una capra e una scimmia soffrirono catarro intestinale dopo l'iniezione. Vacche e vitelli, iniettati nelle vene, morirono rapidamente di setticemia, presentando lesioni intestinali. |
| Infiltrazione edematosa ed ecchimosi del tubo digerente e della milza: degenerazione grave del cuore, del fegato e dei reni. | — | Da questi mitili Salkowski e Brieger ricavarono un alcaloide tossico (Mitilotoxina). | — |
| — | — | Cameron isolò una ptomaina da questi mitili. | — |
| — | — | — | — |
| Edema ed ecchimosi nelle meningi. Emorragie pericardiche, pleurali, gastriche; degenerazioni in vari visceri. | — | — | — |
| Lesioni congestive e degenerative di vari organi. | — | — | — |
| Negli animali lesioni gravi del tubo digerente. | Bacillo sottile diritto, lungo 0,8-1,0. Mobile, resiste al Gram. Fluidifica la gelatina. Nel latte dà leggera colorazione verde. | — | Le cavie e i conigli, infettati per le vie sottocutanea e dello stomaco, morirono rapidamente. Restarono in vita quelli iniettati sotto cute. |

| Autore | Materiale infetto | Sintomi clinici della malattia | Esito della malattia |
|---|---|---|---|
| Zardo (31). | Mitili. | — | — |

Dall'esame dei lavori sopra citati possiamo ricavare le seguenti conclusioni:

1. Tanto le carni corrotte, quanto alcuni molluschi infetti da particolari bacteri, son capaci di determinare certe forme morbose, che nulla hanno di specifico e che per soli caratteri comuni mostrano lesioni e disturbi gastroenterici e i sintomi di una intossicazione generale.

2. Gli agenti etiologici di queste forme morbose sono microrganismi di svariata natura, o patogeni, o saprofiti che divengono patogeni per speciali condizioni dell'ambiente in cui vivono, o per un indebolimento dell'individuo che li introduce nello stomaco.

I bacilli che hanno dato queste varie forme morbose sono infatti:

1. Il Proteus vulgaris e mirabilis (*Levy*, *Schattenmann*, *Glücksmann*, *Jaeger*, *Pfuhl*).

2. Il B. enteritidis (*Gärtner*, *Karlinski*, *Känsche*, *Scheef*, *Barker*).

| Reperti istologici e anatomopatologici | Bacteri | Prodotti tossici | Esperienze sugli animali |
|---|---|---|---|
| Negli animali. Lesioni determinate del bacterio: alterazioni emorragiche, infiammatorie e degenerative dello stomaco e dell'intestino e di altri organi. Lesioni determinate dal nucleoproteide: alterazioni circolatorie, ingenti emorragie interstiziali, rigonfiamento torbido, degenerazione grassa; processi necrotici in vari visceri. | Bacillo lungo 1-1,8 μ, mobile. Non resiste al Gram. Non ha spore. Aerobio facoltativo. Fluidifica la gelatina. Si sviluppa su tutti i terreni a 25° e a 37°. Dà luogo a sviluppo di gas nauseabondi. | I filtrati non sono tossici. L' A. estrasse un nucleoproteide dal corpo dei bacilli. Questo si rivela tossico, in qualsiasi modo venga introdotto negli animali. | Topi, cavie e conigli, infettati sotto cute e nelle vene, muoiono rapidamente. L'infezione per lo stomaco avviene talvolta, dopo neutralizzazione del succo gastrico. Non avviene a stomaco normale. |

3. Il B. Botulinus (*Van Ermengem*, *Barszczewski*, *Charrin* e *Bordier*, *Römer*, *Hermann*, *Forrsmann*).

4. Il B. Friedebergensis (*Gaffky* e *Pack*).

5. Il B. di Lustig (*Lustig*).

6. Il B. Mytilus (*Zardo*),

e altri bacilli ancora non ben determinati.

3. Questi bacteri agiscono in genere come microrganismi tossici e da loro si possono facilmente ricavare toxine, le quali, introdotte negli animali da esperimento, riproducono gli stessi disturbi e le stesse lesioni che si ritrovano, allorchè si usano le colture intere e viventi.

---

Un'altra questione bibliografica che ci interessa di trattare è quella della presenza di microrganismi patogeni, o di saprofiti capaci di diventar patogeni, nei molluschi che generalmente servono come alimento.

Tra questi si trovano nella letteratura menzionati:

1. *Il Bacillo del tifo.* — *Boyce* (32) trovò in un'ostrica dei microrganismi che avevano tutti i caratteri del b. del tifo, e la stessa constatazione fece *Klein* (33) in un' ostrica dei vivai galleggianti, che servivan di deposito alle ostriche americane, e questo autore stesso trovò poi anche il bacillo del tifo nelle ostriche tenute in un'acqua artificialmente contaminata. Similmente *Chantemesse* (34) e *Foote* (35) osservarono che questo bacillo si fissa e si riproduce attivamente nei tessuti delle ostriche, viventi nell'acqua infetta.

2. *Il Vibrione del colera.* — *Klein* (33) conservò delle ostriche nell'acqua di mare, a cui aveva aggiunto colture coleriche, e poi analizzò bacteriologicamente il contenuto di questi molluschi a diversi intervalli. Potè così vedere che i vibrioni, introdottisi nei molluschi, divenivano mano a mano meno virulenti e perdevano i caratteri del vibrione del colera (e principalmente quello della reazione di *Poehl* (*Choleraroth*)).

*De Giaxa* invece (36) afferma che il vibrione colerico disparisce in poche ore, dopo che è stato introdotto nella conchiglia senza ledere il mollusco.

3. *Il Bacterium coli.* — *Chantemesse* (34) trovò il colibacillo nelle ostriche fresche di Marennes e di Ostenda, e anche in ostriche portoghesi e inglesi. Egli considera la presenza di questo microrganismo come l'indice di una contaminazione fecale.

*Boyce* (32) ha pure trovato il colibacillo in moltissime ostriche fresche, ma egli lo considera come un ospite abituale dell'intestino di questi molluschi. Anche *Klein* (33) ha trovato molte volte questo bacterio nelle ostriche comprate sui mercati di Londra. *Mosny* (37) pure ebbe lo stesso reperto dall'esame bacteriologico delle ostriche provenienti dai vivai di Tolone e di Cette, ma afferma che la presenza di questo microrganismo è incostante e si osserva solo nelle ostriche provenienti da vivai, di cui le acque sono notoriamente contaminate.

4. *Altri bacteri.* — I protei (*P. vulgaris* e *P. Zenkeri*) furon trovati nelle ostriche da *Boyce* e da *Klein*. *Lustig* e *Zardo*, come appare dalla precedente tabella, isolarono dal *Mytilus edulis* due differenti microrganismi patogeni.

* * *

Dopo avere così passato in rassegna gli argomenti bibliografici che ci interessano, passiamo alle nostre ricerche.

Nel dicembre del 1900 avemmo notizia di parecchi casi di una grave intossicazione, avvenuti ad Isola nel distretto di Capodistria e il prof. *Lustig*, avendo di già studiato su tale argomento, si affrettò a domandare alcune informazioni e a porre alcuni quesiti al medico distrettuale di Capodistria. Egli gentilmente rispose con la lettera, che qui trascriviamo nella parte che ci interessa e che espone in modo particolareggiato i sintomi clinici e anatomo-patologici delle forme morbose sovraccennate.

« Il giorno 25 novembre p. p. mi venne comunicato essersi manifestati in Isola parecchi casi di una malattia, che, a parere di quel medico, potevano attribuirsi ad avvelenamenti. Recatomi in quella città, venni condotto in sei famiglie, ove il male avea assunto caratteri più gravi. Praticate le più accurate indagini, potei persuadermi, che l'unica causa di tali morbosi accidenti era stata la ingestione di murici, chiamati in queste parti « garruse ». Dagli ulteriori rilievi si venne a sapere, che complessivamente s'erano ammalate 43 persone, le quali tutte avevano mangiato murici, pescati nei giorni 20-22 novembre ad una distanza di 5 miglia dalla costa e dove la profondità delle acque raggiunge i 20 fino a 25 metri. Non è escluso però, che oltre i 43 casi suaccennati, sia precedentemente, sia anche in quell'epoca, sieno sopravvenute intossicazioni simili in altre persone, intossicazioni che possono essere sfuggite all'evidenza.

« I casi di morte furono 5.

« I fenomeni, che si manifestarono costantemente, breve tempo dopo l'ingestione, furono dolori intensi all'epigastrio e vomiti violenti, che naturalmente non assunsero la stessa intensità in tutti gli ammalati. Nell'ulteriore decorso sopraggiunsero altri fenomeni, che non si manifestarono costantemente in tutti gli ammalati o che non erano bene marcati nei più leggermente colpiti. Si osservarono adunque, oltre i vomiti

ed i dolori all'epigastrio, dolori di testa, sete intensa, ematuria, convulsioni, leggieri eritemi, epistassi, difficoltà nell'articolare la favella, esaurimento muscolare, assopimento, fenomeni paralitici e comatosi, paralisi cardiaca.

« Itteri, od almeno una colorazione itterica, non mancò in nessuno dei colpiti ed ebbe a manifestarsi in media al terzo fino al quinto giorno dall'inizio del male.

« Scariche diarroiche si ebbero nella maggior parte degli ammalati; in altri invece fu osservata ostruzione e questi furono i casi più gravi.

« In generale i sintomi morbosi furono meno intensi in quelle persone che avevano mangiato una quantità minore di murici.

« All'autopsia, che praticai su 4 dei 5 deceduti, si osservarono le seguenti alterazioni, indistintamente in tutti i defunti: colorazione itterica nella cute e qualche rara petecchia sulla cute esterna. All'incontro nel tessuto sottocutaneo e muscolare, nelle sierose, specialmente nel mesenterio, alla base del cuore, alle pleure diaframmatiche, *una quantità enorme, colossale* di ecchimosi e suffusioni sanguigne, che variavano da una grandezza minima a quella di un diametro di 1 $^1/_2$ cm.; degenerazione grassa acutissima nel fegato, con iniezioni asteriformi dei capillari, degenerazione adiposa del muscolo cardiaco e dei reni; nel fondo del ventricolo qualche piccolo rossore con capillari iniettati; la mucosa intestinale in buona parte iperemica, iniettata.

« Inviai tutti gli organi interni di una donna d'anni 45 a Trieste per l'analisi chimica e microscopica.

« L'analisi chimica escluse qualsiasi veleno minerale o vegetale. L'analisi microscopica, per quanto mi consti, non fu purtroppo eseguita, ad onta dell'interesse scientifico del caso. Del pari non furono iniettati animali sani con i prodotti di secrezione degli ammalati ».

Dott. G. Beden.
Medico Distrettuale di Capodistria.

Dopo queste informazioni pregammo il sig. Podestà d'Isola di inviarci alcuni esemplari dei murici pescati nella località stessa,

da dove pervennero quelli che causarono i fatali accidenti e a pochi giorni di distanza dall'apparire di questi.

Tali murici ci furono tosto inviati e di ciò rendiamo grazie al signor Podestà d'Isola e al dott. *Beden*, che con tanta cortesia risposero alla nostra preghiera.

Cercammo subito di determinare la specie a cui questi molluschi appartenevano, e ci risultò che, nelle classificazioni zoologiche, appaiono col nome di *Murex brodatus*. Intanto procedemmo ad un regolare esame bacteriologico di questi molluschi e principalmente del loro fegato.

Non piccole erano le difficoltà che si opponevano alla effettuazione degli isolamenti, contravvenendo il meno possibile alle regole più elementari, a fine di evitare inquinamenti, difficoltà inerenti per la massima parte alla struttura del mollusco stesso. Esso è infatti racchiuso in un involucro calcareo di considerevole durezza, costruito, come l'involucro degli altri gasteropodi, nel quale il fegato è situato nella parte più profonda. Occorreva quindi, per mettere allo scoperto quest'organo, aprire con un paio di forbici osteotome l'involucro. Messo a scoperto il fegato, se ne bruciava la superficie con la lama di un coltello arroventato. Ne asportavamo quindi con l'ansa di platino il materiale per gli isolamenti in agar e in gelatina. Oltre che dal fegato, furono fatti isolamenti anche da altri organi del mollusco.

Oltre agli ordinari isolamenti sui terreni di cultura ne facemmo altri col mezzo delle infezioni dirette negli animali (V. Esperienze sugli animali, N° 1) e in tutti i casi ricavammo culture pure di un bacillo, dotato delle seguenti proprietà morfologiche e biologiche.

## Proprietà biologiche del bacillo ricavato dai murici e dagli animali con esso infettati.

*Proprietà morfologiche.* — Bacillo tozzo, ad estremità arrotondate, non ristretto nel mezzo, uniformemente colorabile con i comuni colori di anilina. I bacilli son lunghi 1,6-1,7 μ e larghi 0,7 μ. Non resiste al Gram, nè alla decolorazione con

alcool e con acidi dopo la colorazione intensa con fuxina fenica. Spesso i bacilli si uniscono a due, non formano però filamenti lunghi. Non si vedono forme di involuzione anche nelle vecchie colture.

La loro mobilità non è molto considerevole; ma i bacilli di una coltura in brodo, osservati in goccia pendente, si spostano da un punto all'altro del campo microscopico, quando sono isolati; quando son riuniti a due o a tre restano per lo più immobili.

Non si potè dimostrare la presenza di lunghe ciglia, nè la produzione di spore.

*Proprietà biologiche.* — Riguardo alla temperatura dobbiamo dire che il bacillo, isolato nella prima serie di esperienze, si sviluppò bene a 25° e a 37° quando però fosse coltivato anaerobicamente.

Dalla seconda serie di esperienze si vedrà poi che, mentre questo bacillo, appena isolato dai molluschi, non si sviluppò a 37°, fu poi abituato a questa temperatura, mediante opportuni passaggi negli animali e colture anaerobiche.

È aerobio facoltativo e si sviluppa bene tanto alla superficie, quanto nel profondo dei terreni di coltura e come pure con i vari metodi di anaerobiosi.

*Culture.* — Nelle lastre di gelatina si sviluppa sotto la forma di colonie rotondeggianti, a margini netti, non mobili, di aspetto grigio madreperlaceo. Non fluidifica la gelatina al 10 %.

Il canale di infissione è uniformemente coperto di colonie e da esso parte come una nube di altre piccolissime colonie che si diffondono all'intorno.

Nelle piastre di agar a 25° si ha lo sviluppo di piccole colonie rotonde, grigie, trasparenti, iridescenti, e di grandi colonie che poi confluiscono, formando una patina unica.

Nelle culture in agar a becco di flauto si ha, lungo lo strisciamento, una patina uniforme, grigio-madreperlacea, iridescente.

Nelle colture in agar anaerobie, fatte per strisciamento su di un tubo di agar a becco di flauto e poi ricoprendo la superficie con altro agar, si ha, fra i due strati del terreno di col-

tura, una patina poco densa, ma ben evidente. A poco a poco si formano numerosissime bolle di gas che, ingrandendo, finiscono col frammentare tutta l'agar, rimanendo tra i frammenti degli spazî considerevoli.

In brodo, sia nelle colture aerobiche, sia nelle colture anaerobiche (con acido pirogallico e potassa) si ha un intorbidamento uniforme, senza pellicole superficiali.

Sul siero di sangue si formano colonie staccate, simili a quelle che si osservano sull'agar.

Le proprietà patogenetiche e tossiche di questo microrganismo risulteranno dalle esperienze seguenti.

Riguardo alla sua classificazione non possiamo dir nulla di preciso. Per certi caratteri morfologici e culturali questo bacillo si riavvicina ad alcuni di quelli che sono stati descritti in casi di intossicazione per carni guaste e di mitilismo, per altri caratteri se ne discosta; cosicchè non è possibile identificare questo bacterio con altri già conosciuti; però è certo che esso si riavvicina al gruppo dei bacilli della setticemia emorragica.

## Prima serie di esperienze.

### Esperienze sugli animali.

I. *Infezioni con i murici.* — Fu pestata in un mortaio una certa quantità dei fegati di questi molluschi: poi fu aggiunto del brodo sterile e l'infuso fu filtrato per garza, lasciato depositare e poi decantato.

Col liquido così ottenuto si trattarono 4 cavie e 4 conigli.

*Cavia 1ª* e *2ª*. — Ricevono nel peritoneo 8 cmc. ciascuna del liquido ora menzionato. Muoiono dopo 24 ore. Si fanno colture aerobiche e anaerobiche dall'essudato peritoneale. Le aerobiche rimangono sterili, nelle anaerobiche si nota lo sviluppo di bollicine di gas. Le colture fatte dal sangue rimasero pure sterili: Reperto necroscopico. Nel peritoneo discreta quantità di liquido siero-emorragico che, all'esame microscopico, resulta composto di scarsi leucociti, di corpuscoli rossi e contiene, come in cultura

pura, un bacillo. La superficie esterna delle anse intestinali è iperemica. I vasi del mesenterio e dell'epiploon sono fortemente iniettati. Il fegato, di volume normale, si presenta piuttosto pallido. Non dà molto succo al taglio. I reni, che non sembrano alterati nel loro volume, appaiono piuttosto scolorati. La capsula si stacca facilmente; la superficie di taglio si mostra pure pallida. La milza, non aumentata di volume, è friabile. Il cuore in diastole, contiene sangue scuro liquido. I polmoni dànno segno evidente di edema.

*Cavia 3ª* e *4ª*. — Ricevono ciascuna 3 cmc. del solito liquido, sotto la cute. Muoiono dopo 48 ore. Alla necroscopia si trova una grave reazione infiammatoria, con edema considerevolissimo al punto di innesto. Gli organi interni son poco alterati. Le colture dal liquido dell'edema mostrano lo sviluppo del solito microrganismo. Quelle del sangue rimangono sterili.

*Conigli 1º* e *2º*. — Ricevono nel peritoneo ciascuno 5 cc. del liquido sopra menzionato. Muoiono dopo 24 ore. Alla necroscopia si nota una peritonite emorragica. L'essudato contiene il solito microrganismo come in cultura pura. La mucosa intestinale e stomacale presenta già i segni di una grave infiammazione emorragica.

*Coniglio 3º*. — Gli si iniettano sottocute 5 cc. dell'estratto dei murici. Muore dopo 5 giorni.

È molto dimagrato. Al punto di iniezione si trova una massa caseosa che occupa il cellulare sottocutaneo, assai abbondante. Nei polmoni si osservano macchie scure di forma triangolare (infarti): il cuore in diastole contiene sangue liquido. Il fegato da stasi. La milza non aumentata di volume. Il rene iperemico. I vasi dell'intestino, del mesenterio, dell'epiploon, iniettati. La vescica è enormemente distesa per orina. Si fanno culture dalla infiltrazione sottocutanea e dal sangue aerobiche ed anaerobiche, con reperti positivi.

Si fanno preparati per essiccamento della infiltrazione sottocutanea, colorando con liquido di Loeffler o di Ziehl. Si trovano numerosissimi leucociti e abbondanti forme bacillari.

II. — *Intossicazioni con gli estratti* sterili *di murici*. Un estratto di murici, ottenuto nel modo sovradescritto, fu poi filtrato attraverso la candela di *Chamberland*. Col filtrato, riconosciuto sterile mediante le culture, furono trattati i seguenti animali.

*Cavia 1ª* e *2ª*. — Si iniettano loro 5 cc. del filtrato nel peritoneo. Muoiono dopo 48 ore. Alla necroscopia si trovò: Liquido siero-purulento nella cavità dell'addome. La superficie esterna delle anse intestinali è iperemica. I vasi del mesenterio e dell'epiploon son fortemente iniettati. Fra le varie anse e sulla superficie anteriore ed inferiore del fegato si trovano stracci fibrinosi (essudato fibrino-purulento). Il fegato, pure ricoperto da

questi stracci, si mostra di colorito piuttosto pallido e non è alterato di volume. I reni pure pallidi. La milza friabile. Il cuore flaccido in diastole, contiene sangue scuro. I polmoni edematosi.

*Coniglio 1°.* — Gli si iniettano nella vena marginale dell'orecchio 5 cc. del filtrato sopra descritto. Il coniglio muore dopo 5 giorni. Alla necroscopia si trova: nei polmoni due o tre macchie scure di forma triangolare con la base verso la periferia, che si approfondano nel parenchima polmonare e dànno al taglio succo sanguinolento. Il cuore è in diastole, enormemente sfiancato e dilatato e contiene grossi coaguli, misti a sangue liquido. Il fegato ha l'apparenza del fegato da stasi. La milza, che non appare ingrandita, si spappola facilmente. Il rene, di volume normale, è iperemico; le anse intestinali presentano i vasi della superficie esterna molto iniettati, il cieco è enormemente teso per gas. I vasi del mesenterio sono iniettati. La vescica piena di orina. Si fanno culture dal sangue aerobiche ed anaerobiche con reperto positivo.

III. — *Infezioni con le culture.* Con le culture aerobiche, ottenute dalla cavia morta pel trattamento coll'infuso dei murici, iniettato nel peritoneo, si infettano due nuove cavie.

*Cavia 1ª.* — Iniettiamo nel peritoneo 3 cmc. di una emulsione della coltura. La cavia muore dopo 24 ore. Necroscopia. — Peritonite purulenta, infiltrazione edematosa nel punto d'inoculazione. Fegato da stasi, rene iperemico. Milza aumentata di volume. Si fanno culture aerobiche e anaerobiche dal sangue e dal liquido peritoneale. Si ha sviluppo nelle culture aerobiche.

*Cavia 2ª.* — Iniezione sottocute di 3 cmc. della stessa emulsione. La cavia muore dopo 24 ore. Necroscopia. — Forte edema sottocutaneo e grande raccolta di liquido nelle parti più declivi del corpo. La pelle è molto arrossata. Gli organi interni del corpo non appaiono alterati. Si fanno culture anaerobiche dall'edema con resultato positivo. Invece i tubi innestati col sangue rimasero sterili.

IV. — *Infezioni per la via dello stomaco.* Furono infettati con la cultura, ricavata dalle cavie sopra menzionate, due conigli ed un cane.

*Coniglio 1°.* - Gr. 886. Digiuno da un giorno. Gli si iniettano nello stomaco 5 cc. di emulsione di cultura, previa neutralizzazione con carbonato di soda. Muore dopo 5 giorni. Necroscopia. — Polmoni con piccoli infarti e qualche infarto piuttosto grosso. Cuore flaccido; miocardio pallido. Nell'addome nulla di notevole. Fegato da stasi. Milza normale.

Rene iperemico, di volume normale. Nello stomaco: superficie esterna normale, nella mucosa, suffusione sanguigna in alcuni punti; al piloro arrossata. Piccole macchie nere nello spessore della mucosa. L'intestino contiene feci liquide, miste a muco, quasi scolorate nel tenue. Nel tenue mucosa iperemica. In due o tre punti appaiono piccole ulceri asteriformi. Si fanno culture anaerobiche e aerobiche dal contenuto del tenue e dal sangue del cuore e si ritrova il solito bacillo.

*Coniglio 2°.* — Gr. 1416. Iniettiamo nello stomaco, in condizioni normali, 5 cc. di emulsione di cultura in agar. Muore dopo 8 giorni. Necroscopia. — I due lobi superiori di ambedue i polmoni si mostrano molto aumentati di volume, induriti, di aspetto sagrinato: non respirano. Cuore in diastole, flaccido, con miocardio pallido. Addome: nulla nella cavità peritoneale. Stasi nei vasi del mesenterio. Fegato di volume un po' aumentato e con stasi. Rene iperemico. La milza appare normale. Lo stomaco contiene cibo. Iperemia al piloro. Emorragie sottomucose. Intestino iperemico; in molti punti numerosissime emorragie sottomucose circoscritte. Si fanno culture anaerobiche e aerobiche dall'intestino e dal sangue del cuore con esito positivo.

*Cane 1°.* — Kgr. 5. Gli si mescolano con la carne e il brodo due culture anaerobiche del bacillo in questione. Muore dopo 33 ore. Necroscopia. – Polmoni normali. Cuore flaccido, contenente sangue liquido, miocardio pallido, sulle auricole numerose ecchimosi. Fegato di volume presso che normale, di colore a macchie rosse scure e giallognole. Milza normale, rosea. Rene di volume aumentato, la capsula si svolge bene. Superficie esterna a macchie paonazze e pallide, giallognole. Superficie interna pallida. Vasi pieni di sangue. Stomaco e intestino iperemici, con emorragie sottocutanee. Placche del *Peyer* ingrossate. Si fanno culture dal sangue con resultato positivo.

V. — *Esperienze con i filtrati delle culture.* Prepariamo alcuni palloni di brodo secondo il metodo di *Hüppe*, e, dopo l'innesto, sostituiamo all'aria l'idrogeno. Dopo circa una settimana di sviluppo a 37°, filtriamo queste culture attraverso il filtro *Chamberland*, e poi, assicuratici della sterilità del filtrato, procediamo alle seguenti esperienze.

*Coniglio 1°.* — Gr. 1260. Si iniettano nel peritoneo 5 cc. di filtrato. Muore dopo 4 giorni. Necroscopia.—Nei polmoni: epatizzazione di un intero lobo, negli altri considerevoli infarti ed emorragie sottopleurali. Nel peritoneo poco essudato: mesenterio assai arrossato. Vasi mesenteriali ingorgati. Stomaco assai dilatato con emorragie sottosierose; mucosa stomacale arrossata ed in parte necrotizzata. Fegato ingrossato, pallido. Reni di volume normale pallidi. L'urina contiene albumina.

*Coniglio 2°.* — Gr. 1210. Riceve nel peritoneo 5 cc. di filtrato. Muore dopo 5 giorni. Necroscopia. — Polmoni ricchi di infarti di varia grandezza. Cuore in diastole, flaccido, contenente sangue liquido. Nella cavità addominale si riscontra una considerevole stasi venosa. Intestino e stomaco arrossati. Mucosa iperemica e in qualche punto ulcerata. Fegato giallastro. Milza spappolabile. Rene pallido, con macchie emorragiche. L'urina contiene albumina.

*Cavia 1ª.* — Gr. 443. Riceve 3 cc. di filtrato nel peritoneo. Muore dopo 2 giorni. Necroscopia. — Polmoni quasi totalmente infiltrati. Nella cavità addominale poco essudato, arrossamento della sierosa. Fegato ingrossato, pallido. Milza spappolabile. Intestino e stomaco assai iperemici esternamente: internamente mostrano larghe distruzioni epiteliali. Reni di volume normale, pallidi, lucenti nelle superfici di taglio.

*Coniglio 3°.* — Gr. 900. Riceve 5 cc. di filtrato sotto la cute. Muore dopo 6 giorni. Necroscopia.—Larghi e numerosi infarti nei polmoni. Cuore pallido e flaccido. Nello stomaco e nell'intestino suffusioni emorragiche sottomucose e larghissime distruzioni epiteliali, che in qualche punto, e specialmente nel cieco, hanno l'aspetto di estese ulcerazioni. Fegato e milza da stasi. Reni pallidi, un po' ingrossati.

*Cavia 2ª.* —Gr. 750. Riceve 5 cc. di filtrato nei peritoneo. Muore dopo 8 giorni. Necroscopia. — Polmoni ricchi di infarti e con effusioni emorragiche sottosierose. Cuore flaccido, contenente sangue liquido. Cavità peritoneale, contenente poco essudato. La sierosa è ovunque arrossata. Stasi nei vasi mesenteriali. Emorragie sottosierose nello stomaco e nell'intestino. La mucosa di tutto il tubo digerente è iperemica; qua e là si vedono piccole ulcerazioni, i follicoli linfatici sono ingorgati. Il fegato è aumentato di volume e vi è forte stasi. Milza ingrossata, spappolabile. Reni variegati per emorragie sottocapsulari e parenchimali.

*Cavia 3ª.* — Gr. 440. Riceve 5 cc. di filtrato sotto la pelle. Muore dopo 8 giorni. Il reperto necroscopico è quasi eguale al precedente.

*Cavia 4ª.* — Gr. 320. Riceve 3 cc. di filtrato sotto la cute. Muore dopo 5 giorni. Necroscopia.—Polmoni in parte epatizzati ed in parte ricchi di piccoli infarti e di emorragie sottopleurali. Cuore dilatato, contenente sangue liquido. Peritoneo e mesenterio arrossati. Nelle stomaco e nell'intestino le solite alterazioni emorragiche e degenerative. Il fegato è aumentato di volume ed ha un aspetto marmorizzato a macchie gialle. Milza friabile. Reni variegati per emorragie parenchimali; il parenchima è di colorito giallo-pallido.

## Seconda serie di esperienze.

Dopo i casi disgraziati del novembre 1900 fu sospeso ad Isola l'uso dei murici, provenienti dai luoghi ove erano stati

estratti i molluschi infetti, e così, per quanto ci consti, nessuna nuova infezione ebbe più a verificarsi. Allora, nel novembre del 1901, scrivemmo di nuovo al Podestà di Isola, affinchè volesse inviarci altre *garruse*, a fine di vedere, se potevamo ancora isolare da esse il microrganismo, che avevamo trovato precedentemente. Il Podestà di Isola ci inviò infatti gentilmente una certa quantità di *garruse*, raccolte nei luoghi ove prima erano stati pescati i murici tossici: questi molluschi arrivarono in buono stato di conservazione e con essi facemmo le seguenti esperienze.

## Culture dai murici.

Il materiale per gli innesti fu preso dal fegato dei molluschi con le precauzioni descritte in principio e furono fatte culture su piastre in gelatina e in agar, culture per strisciamento e per infissione in gelatina, in agar, e in siero, culture anaerobiche. Alcune di queste furono poste a 25°, altre a 37°.

In tutte le culture, tanto aerobiche che anaerobiche, tenute a 25°, si svilupparono colonie di microrganismi, identici a quelli descritti nella 1ª parte, e *soltanto colonie di questi organismi*. Nei tubi e sulle piastre tenute a 37° *non si sviluppò alcun microrganismo*. Questo fatto ci sorprese assai, inquantochè il bacterio ricavato la prima volta cresceva benissimo alla temperatura del corpo purchè coltivato anaerobicamente.

Neppure nei successivi trapianti, che si fecero dalle culture tenute a 25°, si ottennero microrganismi capaci di svilupparsi a 37°.

## Esperienze sugli animali.

I. — *Infezioni mediante l' ingestione della carne dei molluschi.*

1) Alcuni molluschi, estratti dal guscio, furono messi nella gabbia di tre topi privi d'altro cibo. Si potè constatare che, dopo 24 ore ,un po' di tal materiale era stato mangiato: tuttavia nessuno dei topi morì.

2) Circa 20 molluschi furono estratti dal guscio con le cautele antisettiche esposte precedentemente, quindi furono ma-

cinati in un mortaio, aggiungendo un po' di brodo sterile. Il liquido, filtrato per garza e lasciato depositare, fu iniettato negli animali nel modo seguente:

| | | | |
|---|---|---|---|
| Topo . . . . | sottocute . . . | cmc. | $^1/_8$ |
| Topo . . . . | sottocute . . . | » | $^1/_4$ |
| Topo . . . . | nel peritoneo. | » | $^1/_8$ |
| Topo . . . . | nel peritoneo. | » | $^1/_4$ |
| Cavia . . . . | sottocute . . . | » | $^1/_2$ |
| Cavia . . . . | sottocute . . . | » | 1 |
| Cavia . . . . | nel peritoneo. | » | $^1/_2$ |
| Cavia . . . . | nel peritoneo. | » | 1 |

I topi stettero male qualche giorno, ma poi prestamente si ristabilirono. Le cavie mai rifiutarono il cibo e non apparvero affatto malate.

II. — *Infezioni degli animali con le culture.*

1. Da alcune culture aerobiche in agar, tenute a 25° e ben sviluppate, si fece una emulsione di microrganismi in brodo e fu iniettata questa in 4 topi, in parte sottocute, in parte nel peritoneo. Nessuno di questi morì.

2. La stessa esperienza fu ripetuta con culture anaerobiche, sviluppate pure a 25° e su tre topi, di cui due furono iniettati nel peritoneo e uno sottocute. Di questi, i due iniettati nel peritoneo morirono dopo 24 ore, quello iniettato sottocute apparve ammalato, ma poi guarì.

Alla necroscopia trovammo: poco essudato peritoneale; peritoneo arrossato con chiazze emorragiche; mucosa dello stomaco e dell'intestino fortemente arrossata e in qualche punto ulcerata; milza ingrossata; epatizzazione polmonare. L'esame microscopico dell'essudato peritoneale rivelò la presenza di scarsissimi bacteri; nel sangue nessun microrganismo.

3. Si fanno culture aerobiche e anaerobiche dell'essudato peritoneale e del sangue e si pongono a 25° e a 37° Quelle dal sangue rimasero sterili.

Delle colture dell'essudato peritoneale, quelle tenute a 25° mostrarono poche colonie che crebbero rapidamente, in quelle

tenute a 37° si svilupparono pure pochissime colonie, piccole che crebbero assai lentamente.

4. Dalle culture anaerobiche, tenute a 25°, si fanno colture in brodo e si tengono pure a 25°, in un vaso chiuso con acido pirogallico e potassa caustica.

Dopo 3 giorni di sviluppo si infettano con queste due topi, iniettando loro nel peritoneo $^1/_4$-$^1/_2$ cmc. di cultura. I topi morirono dopo tre giorni.

Alla necroscopia notammo: una suffusione rossastra del peritoneo e degli intestini; la mucosa iperemica e in parte ulcerata; parziale epatizzazione dei polmoni. Si fanno al solito culture aerobiche e anaerobiche dal peritoneo e dal sangue. Alcune di queste si tengono a 25° altre a 37°.

In tutte si ebbe abbondante e rapido sviluppo. Notevole fu lo sviluppo delle colture anaerobiche a 37° per la abbondante produzione di gas, raccolto in bolle e sollevante intieri strati d'agar.

5. Con le colture anaerobiche sovraccennate si iniettano due topi ($^1/_4$-$^1/_2$ cmc.) i quali muoiono in 24 ore. Alla necroscopia si hanno i soliti reperti. Le colture anaerobiche e aerobiche si sviluppano bene tanto a 25° quanto a 37°.

6. Con le colture aerobiche, ricavate dai topi summentovati, si infettano tre altri topi nel peritoneo (iniettando $^1/_3$ cc. di emulsione di coltura per topo). I topi si trovano morti nella mattina seguente. Alla necroscopia si trovano poche alterazioni, il che ben si spiega, data la rapidità della malattia: in uno di questi topi si trova nel peritoneo una discreta quantità di essudato puriforme, o contenente moltissimi microrganismi. Si fanno colture aerobie, anaerobie e su lastre ritrovando il solito microrganismo.

7. Ulteriori ricerche, eseguite dal dott. *Tiberti*, a fine di studiare le alterazioni istologiche, provocate da questo bacillo negli animali, dimostrarono che, mediante i suddetti passaggi, il bacterio era tornato virulento anche per i conigli.

## Conclusioni.

I resultati delle presenti ricerche si possono così brevemente riassumere:

1. Dai murici, pescati negli stessi luoghi ove erano stati estratti quelli che avevano prodotto le forme morbose dianzi ricordate, abbiamo ricavato la prima volta un *bacillo*, il quale era dotato di considerevoli proprietà patogenetiche, in modo da condurre a morte rapidamente gli animali (topi, cavie, conigli) con esso infettati; sia che l'infezione avvenisse per la via dello stomaco, sia che il materiale infettante fosse introdotto nel peritoneo o sotto cute o nel sistema circolatorio.

2. Le alterazioni anatomiche, consistenti specialmente in lesioni circolatorie (emorragie, infarti) degenerative e necrotiche, sono somiglianti a quelle che risultarono dalla autopsia degli individui, che mangiarono i molluschi infetti.

Questo fatto, posto in relazione con l'altro, che non fu possibile di dimostrare per via chimica l'esistenza di alcun veleno nei murici patogeni, in modo da poter affermare che le malattie verificatesi negli uomini fossero semplici intossicazioni, ci autorizza a ritenere come *probabile*, che tutti i casi verificatisi in Isola, dopo l'ingestione delle *garruse*, dovessero attribuirsi al microrganismo da noi isolato. Non nascondiamo tuttavia che di ciò manca, almeno per noi, una prova diretta, quale sarebbe stata quella della ricerca batteriologica negli ammalati e nei cadaveri di coloro che vennero a morte.

3. Per i caratteri clinici e anatomo-patologici, tanto degli ammalati, quanto degli animali sperimentalmente infetti, i quali dimostrano come le lesioni siano particolarmente localizzate al tubo gastroenterico (anche se il microrganismo fu introdotto sotto la cute, o nel peritoneo, o nelle vene) si possono riavvicinare le infezioni, di cui adesso ci siamo occupati, con le varie forme morbose, derivanti dall'ingestione di carni corrotte o di altri molluschi. La esposizione bibliografica, fatta in principio, è sufficiente dimostrazione di ciò.

4. Il microrganismo da noi isolato è un bacterio tossico, cioè agisce come patogeno, in quanto è capace di produrre toxine. Infatti, con i filtrati sterili, abbiamo provocato negli animali lo stesso quadro morboso e le stesse alterazioni anatomo-patologiche, che col microrganismo vivente.

Anche sotto questo punto di vista tali infezioni rassomigliano alle altre, ricordate nella bibliografia, le quali in genere hanno dimostrato il carattere di malattie tossiche.

5. Nella *seconda serie di ricerche*, eseguite a circa un anno di distanza dalle prime, *abbiamo ritrovato nei murici lo stesso microrganismo* che avevamo isolato la prima volta. Però il bacterio, appena isolato, non era capace di svilupparsi, a 37°, nè era patogeno per gli animali.

Ma con alcuni passaggi negli animali e mediante la coltivazione con i metodi per gli anaerobi, lo abbiamo potuto abituare alla temperatura di 37° (in modo da avere a questa temperatura un considerevole sviluppo) e di più lo abbiamo reso di nuovo patogeno per gli animali.

6. Sembra dunque che il microrganismo da noi isolato sia un ospite abituale dei murici, che vivono in certe località del litorale di Isola e che questo microrganismo, in genere non patogeno, sia capace di acquistare, in determinate condizioni, proprietà patogenetiche di considerevole gravità, in modo da diventare pericolosissimo per gli individui che si nutriscono di tali molluschi.

Così si spiegherebbe come i murici, che per tanti anni hanno servito abitualmente di cibo agli abitanti di Isola, siano all'improvviso diventati causa di gravi malattie.

Come invero risulta dalla nostra esposizione bibliografica, la esistenza di microrganismi patogeni, o capaci di diventar tali, entro molluschi di varia natura (ostriche, mitili) è tutt'altro che rara, e a questo fatto si possono attribuire i casi di malattia e di morte in seguito all'ingestione di tali molluschi.

## Bibliografia.


1. Levy, Experimentelles und Klinisches über die Sepsinvergiftung. (Arch. f. exper. Path. u. Pharm., Vol. 34, 1894, pag. 342).
2. Schattenmann, Beitrag zur Kenntniss der Wurst- und Fleischvergiftungen (Diss.). München 1895, (Ref: Deutsche thierärztl. Wochschr, Vol. 6, pag. 135; Ztschr. f. Fleisch- und Milchlygiene, Vol. 8, pag. 189).
3. Glücksmann, Hygienische Rundschau, 1899, pag. 1250. (Rivista).
4. Jaeger, Zeitschrift f. Hygiene, 1892, pag. 525.
5. Pfuhl, Mannerkrankung nach Wurstgenuss. (Zeitschr. für Hygiene, Vol. 35, 1900, fasc. 2.
6. Van Ermengem, Untersuchungen über Fälle von Fleischvergiftung mit Symptomen von Botulismus. (Ctbl. f. Bakter., Vol. 19, pag. 442).
7. Van Ermengem, Ueber einen neuen anaëroben Bacillus und seine Beziehungen zum Botulismus. (Ztschr. f. Hygiene, Vol. 24, pag. 1).
8. Kempner, Veiterer Beitrag zur Lehre von der Fleischvergiftung. Das Antitoxin des Botulismus. (Zeitschr. f. Hyg., Vol. 26, Fasc. 3, pag. 481).
9. Kempner und Pollack, Die Wirkung des Botulismustoxins (Fleischgiftes) und seines specifischen Antitoxins auf die Nervenzellen. (Deutsche med. Wochenschr., n. 32, pag. 505).
10. Brieger und Kempner, Beitrag zur Lehre von der Fleischvergiftung. (Deutsche med. Wchschr., n. 33, pag. 521).
11. Barszczewski, Ueber Intoxitation mit Fleischproducten. (Gaz. lekarskaia n. 42, pag. 1100).
12. Charrin et Bordier, Action cardiaque, propriétés speciales de la botuline. (Comptes rendu de la Soc. de Biol., n. 2, pag. 60).
13. Römer, Ein Beitrag zur Aetiologie des Botulismus. (Centralbl. f. Bact., 1900, XXVII, 25).
14. Hermann, X^ter Kongress für Hygiene zu Paris. (Ref. nel Centr. f. Bact., 1901, N. 17, XXIX).
15. Forbsmann, Beitrag zur Kenntniss der Bakteriologie des Botulismus. (Centralbl. f. Bact., XXXIX, n. 12).
16. Gärtner, Ueber die Fleischvergiftung in Frankenbanen am Kyffliären und der Erreger derselben. (Korrespondenzbl. des Allg. ärztl. Ver in Thüringen).
17. Karlinski, Zur Kenntniss des B. enteritidis Gärtner. (Centr. f. Bakt., Vol. VI, 1889, n. 11).
18. Günther, Bacteriologische Untersunchungen in einem Falle von Fleischvergiftung. (Arch. f. Hygiene, Vol. 28, 1896).
19. Barker, Note on cases of meat poisoning. (Brit. med. journ., Vol. 2, pag. 1367).

20. Kaensche C., Zur Kenntniss der Krankheitserreger bei Fleischvergiftungen. (Zeitschr. f. Hygiene, Vol. 22, pag. 53).
21. Scheff, Bericht über die in Horb und Umgegend im September 1896 vorgekommenen Erkrankungen nach Genuss von Leberwurst. (Med. Correspdzbl. des Wurttemberg. ärztl. Landesvereins, n. 43, pag. 391).
22. Basenau, Verdere bijdragen tot de geschiedenis von de vleeschvergiftigingen. (Diss.) Amsterdam.
23. Arustimoff, Ueber die Natur des Fischgiftes. (Centr. f. Bact., Vol. X, 1891, n. 4).
24. Gaffky e Paak, Ein Beitrag zur Frage der supuranten Wunde, und Fleischvergiftungen. (Arb. aus dem Kais. Gesundheitsamt, 1890).
24 bis. Poels und Dhont, Fleischvergiftung. (Holländische Ztschr. f. Thierheilk. Vol. 24, pag. 187).
25. Virchow, Rapporto sulla epidemia di Wilhelmshaven. (Riferito da Brieger nel libro: Microbes, ptomaînes et maladies. Paris, 1887).
26. Camkron, Fièvre typhoïde comnuniquée par les huîtres. (Brit. med. assoc. Cambridge, 1880).
27. Rendu, Herpés labial généralisè consécutif à une intoxication par des moules crues. (Bull. de la Soc. d. hôp. de Paris, 1899, pag. 775).
28. Brosch, Austernvergiftung. (Wiener-Klin. Wochensch., 1896, n. 313).
29. Casey, A case of oyster poisoning. (Brit. med. Journ., 1894, pag. 463).
30. Lustig, I microrganismi del Mytilus Edulis. (Arch. p. le Sc. Med., XII. n. 17).
31. Zardo, Di un microrganismo isolato dal Mytilus Edulis. (Lo Sperimentale. A. IV, fasc. II, 1901).
32. Boyce, On oisters and typhoid fever. (Pubblic Healt. London, 1895-96, Vol. VIII).
33. Klein, On oyster culture in relation to disease. London. (Report of the Govern. Health Board, 1894-95, pag. 109).
34. Chantemesse, Trasmission de la fièvre typhoïde par les huîtres. (Bull. méd., 1896, pag. 534).
35. Foote, A bacteriologic study of oysters. (The med. news. Philadelphia, 1895, pag. 396).
36. De Giaxa, Oysters and typhoïd fever. (Brit. Med. Journ., 1895. pag. 390).
37. Mosny, Dès maladies provoqués par l'ingestion des mollusques, (Revue d'Hygiène, 1899, Vol. XXI, n. 12).

# SULLA PERISTALTICA INTESTINALE.

## NUOVE RICERCHE SPERIMENTALI

DEL

**PROF. G. FASOLA.**

I movimenti dell'intestino, per la loro importanza in fisiologia ed in patologia, furono oggetto di numerose ricerche sperimentali ed osservazioni cliniche (1); tuttavia ancora oggi non si ha una conoscenza esatta e completa di essi, tantochè, lasciando anche da parte le questioni relative alla innervazione intestinale e rimanendo nel campo puramente meccanico dei detti movimenti, troviamo molte discrepanze fra gli Autori. — Ed infatti, prescindendo dai movimenti *ritmici* (sistolici e diastolici) così bene studiati da *Bagliss* e *Starling* e che probabilmente corrispondono ai movimenti *pendolari*, descritti da *Braam-Houckgeest*, noi vediamo che quantunque l'osservazione quotidiana ci attesti un movimento normale perennemente discendente del contenuto per opera della peristaltica intestinale, pure alcuni credono ancora si possano avere dei movimenti antiperistaltici o in via normale od almeno in determinate condizioni sperimentali o patologiche.

Già da parecchio tempo ho avuto occasione di occuparmi di questa quistione, e nello scorso anno fu pubblicato in proposito un lavoro compiuto dal collega prof. *L. Sabbatani* e da me (2). Si trattava di una serie di esperienze eseguite sui cani,

(1) Vedi in fine la bibliografia.

(2) Sabbatani L. e Fasola G., *Sulla funzione motoria dell'intestino.* (Lo Sperimentale, Anno LIV, 1900, Fasc. 4).

le quali consistevano in capovolgimenti di anse più o meno lunghe del tenue; di più, con disposizioni operatorie speciali, ci eravamo posti in condizione di esaminare come si comportasse un' ansa capovolta senza compromettere affatto la circolazione del contenuto intestinale; infine per mezzo di fistole potemmo, con un arteficio semplicissimo e in animali nella pienezza della salute, studiare direttamente i movimenti dell'intestino.

Dall'insieme di quelle svariate ricerche, che diedero tutte risultati concordi, noi fummo indotti ad ammettere: 1° Che nell'animale in condizioni fisiologiche non hanno mai luogo movimenti antiperistaltici (esperienze colla pallina mobile, ecc.). 2° Che un' ansa intestinale, in qualsiasi posizione o rapporto venga messa rispetto alle altre, conserva stabilmente la direzione fisiologica dei suoi movimenti; per cui nell'ansa non si verifica mai un adattamento neppure dopo 100 e più giorni (capovolgimenti; anse parallele a direzione inversa; diverticoli ciechi, ecc.). 3° Che dal punto di vista fisiologico, mentre per il passaggio dei solidi è indispensabile l'intervento di un movimento peristaltico attivo, i liquidi invece possono facilmente muoversi e progredire senza bisogno di una peristaltica attiva, bastando per la circolazione di essi i così detti movimenti ritmici, pendolari ed il rimescolamento delle anse tra loro; ragione per cui essi possono anche *scorrere a ritroso* per tratti più o meno lunghi dell' intestino. Quest' ultimo fatto che veniva a confermare (salvo l' interpretazione) le belle osservazioni del *Grützner* (1), ci spiegava nel modo più soddisfacente la sopravvivenza abbastanza lunga dei nostri animali a intestino capovolto.

Per cui noi avevamo concluso il nostro lavoro escludendo *in ogni caso* l'esistenza di movimenti antiperistaltici.

Ma se quelle esperienze potevano rispondere col loro numero e colla concordanza dei loro risultati alle pochissime fatte col

(1) P. Grützner nel suo lavoro pubblicato un anno prima (*Ueber die Bewegungen des Darminhaltes*, Arch. f. d. ges. Physiologie von Pflüger, Bd. LXXI, H. 9-10) aveva dimostrato che, date circostanze favorevoli, i liquidi contenuti nell' intestino tenue ed anche nel crasso possono diffondersi in regioni molto elevate e fin nello stomaco. L'autore però ammette, come è noto, l'esistenza di movimemti antiperistaltici.

metodo del capovolgimento da alcuni Autori, i quali interpretarono la sopravvivenza limitata dei loro animali come conseguenza di una limitata antiperistalsi; se d'altro lato esse portavano, colla varietà delle disposizioni operatorie, altri contributi allo studio della quistione; è indubitato che mezzi diversi d'indagine bisognava impiegare per esaminare il valore probativo di altri fatti messi innanzi in appoggio all'esistenza di movimenti antiperistaltici.

È noto infatti come, a prova dell'esistenza di questi, vengano citate alcune esperienze di eccitazione diretta dell'intestino con stimoli vari in animali diversi; e come alcuni clinici interpretino il così detto *vomito fecale* nei casi di occlusione intestinale da cause diverse, come effetto di contrazioni antiperistaltiche.

Ora, fu appunto per studiare il valore di questi ultimi fatti dal punto di vista della nostra quistione, che io ho intrapreso le ricerche esposte nella presente Nota, coadiuvato efficacemente dal collega ed amico carissimo prof. *L. Sabbatani*, al quale esprimo qui la più viva gratitudine per l'opera sua solerte e disinteressata.

Esporrò dapprima quanto riguarda l'effetto motorio degli stimoli applicati all'intestino dei mammiferi e delle rane; poi quanto ho osservato in cani nei quali, mediante l'occlusione dell'intestino, ho cercato di riprodurre sperimentalmente il quadro clinico proprio di quella malattia.

## Comportamento dell'intestino dietro applicazione di stimoli vari.

### *A. — Mammiferi.*

Volendo studiare la peristaltica intestinale, il mezzo più semplice e che si presenta per primo alla mente è quello di aprire l'addome di un animale ed osservare direttamente i movimenti intestinali. Ma l'osservazione dell'intestino esposto all'aria non può essere che brevissima e non dà mai buoni risultati; mantenendo l'animale in un bagno di soluzione fisiologica a temperatura normale, l'osservazione può essere pro-

tratta più a lungo, ma è disturbata dai movimenti generali dell'animale stesso. Risultati migliori si hanno osservando l'intestino di un animale, per esempio di un cane, cautamente curarizzato e mantenuto nel detto bagno.

In tutti questi casi, da me sperimentati, io ho osservato bensì i movimenti più o meno vivi ed estesi che animano le anse intestinali e che, nell'animale morente, le han fatte rassomigliare ad una massa di vermi brulicanti; ma mi sono convinto della impossibilità di stabilire, in base a questa semplice osservazione per quanto fatta con diligenza, la natura peristaltica o antiperistaltica di alcuno fra gli svariati e complessi movimenti che avvengono nelle anse. Epperò, sempre che si vogliano studiare movimenti peristaltici conviene provocarli applicando all'intestino stimoli vari ed opportuni (applicazione di sali, stimoli meccanici, correnti indotte, ecc.).

Ed è precisamente sull'effetto di quegli stimoli che esiste, seconde me, una prima controversia. Ecco, per es., come il *Luciani* riassume nel suo ottimo trattato in corso di pubblicazione (T. I°, p. 726) i risultati ottenuti da vari Autori in queste esperienze:

« Il fatto più importante che si constata stimolando di-
« rettamente con stimoli meccanici o elettrici l'intestino è che
« la contrazione che si produce nel punto stimolato, si propaga
« in ambedue le direzioni dell'intestino; anzi, in alcune specie
« di animali è dato constatare il fatto strano che il movimento
« si propaga più estesamente all'insù che all'ingiù, vale a dire
« più nel senso antiperistaltico che peristaltico (*Engelmann*).
« Ma dagli esperimenti del *Nothnagel* si rileva che l'effetto
« dell'eccitamento varia secondo la natura dello stimolo. Po-
« nendo un cristallo di cloruro sodico sull'esterna superficie
« dell'intestino, si produce una contrazione che si propaga
« in alto, nella direzione del piloro, per parecchi centimetri [1];
« invece un cristallo di cloruro potassico produce solo uno
« spasmo locale. *Horwath* riconobbe che le correnti indotte

[1] Talvolta la contrazione si estende egualmente in su ed in giù. (Flöel, Pflüger's Archiv., Bd. XXV, s. 160).

« deboli producono delle onde contrattili in ambedue le di-
« rezioni; le correnti energiche invece determinano una co-
« strizione locale. Probabilmente queste differenze dipendono
« dalla prevalente azione dello stimolo sugli elementi contrat-
« tili, oppure sugli elementi nervosi del punto eccitato ».

Ora, dalle mie esperienze risulterebbe che i dati di quegli Autori non corrispondono esattamente al vero, o meglio che i fatti da essi osservati non ebbero sempre una conveniente interpretazione.

Incominciando dalle esperienze fatte sui mammiferi (cane, coniglio, gatto) riferirò qui, riassumendole, le relazioni di alcune di esse, notando subito che in tutte le altre ho ottenuto risultati concordanti; la evidenza dei fenomeni non era naturalmente sempre la stessa, essendo necessariamente variabili le condizioni di eccitabilità dell'intestino nei diversi casi; mai però, ed è questo che importa, ho osservato fatti contradditori.

**Esperienza del 4 Febbraio 1901.** — Cane femmina K. 6,800 — Previa tracheotomia si inietta lentamente per la vena crurale del curaro di *Merk* all'1 %, fino ad ottenere la scomparsa del riflesso oculo-palpebrale. — Iniziata subito la respirazione artificiale, aperto il ventre e portato in alto il grande epiploon, si cominciano le osservazioni sull'intestino.

Posti alcuni cristallini di ClNa su un punto di un'ansa del tenue ben visibile e di cui si è determinata prima la direzione (rapporto collo stomaco) e ricoperta la massa intestinale con un ampio vetro d'orologio bagnato prima in una soluzione fisiologica a 38°, si osserva che dopo un tempo variabile da ½ a due minuti circa si forma una strozzatura più o meno profonda e completa nel punto stimolato.

Mentre la strozzatura va formandosi, o immediatamente dopo, si osserva quanto segue: il tratto d'intestino (2-4 cent.) che precede il punto stimolato presenta una serie ritmica di lievi contrazioni e rilasciamenti che si succedono lentamente a guisa di onde, e il cui effetto sommario e finale consiste in una diminuzione stabile del diametro intestinale dovuto ad una contrazione generale della tonaca muscolare. Durante questo periodo di attività nel tratto superiore, che ha una durata molto varia (1-4 minuti), il tratto sottostante al cingolo rimane completamente passivo; non è che verso la fine di quel periodo o subito dopo di esso, che il tratto inferiore entra in azione, riproducendo il fenomeno descritto pel tratto superiore ed arrivando allo stesso effetto della contrazione generale, quantunque meno intensa, con diminuzione di diametro. Si osservò infine che durante questo secondo periodo, pure di durata

variabile, si inizia il rilasciamento del tratto superiore, il quale si compie in un tempo più o meno lungo e può essere più o meno completo.

Quanto alla direzione delle azioni contrattili descritte, devo notare che nel tratto superiore le oscillazioni ritmiche, di cui ho parlato, insorgevano per lo più contemporaneamente in punti diversi del tratto stesso, alternando le loro fasi in modo da rendere impossibile il giudizio su un punto di partenza o di arrivo delle onde; il tratto entrava in azione lentamente in tutta la sua estensione ed andava diminuendo di diametro in tutti i suoi punti. Altrettanto deve dirsi per la successiva azione del tratto inferiore.

Solo in qualche caso, e in sul principio dell'esperienza, avvenne che le ondulazioni del tratto superiore insorgessero con maggiore evidenza ed energia a qualche distanza dal punto eccitato e si propagassero lentamente verso di esso, procedendo poi, durante la seconda fase, nel tratto inferiore.

La contrazione locale a cingolo va man mano diminuendo, ma è molto tarda a scomparire del tutto, anche se si ripulisce con cura il punto stimolato col sale. Il KCl non diede mai altro che la contrazione locale.

L'esperienza descritta fu ripetuta nello stesso animale in punti diversi del tenue, sempre con l'identico risultato, controllato successivamente in un altro cane, posto nelle stesse condizioni.

**Esperienza del 7 Febbraio 1901.** — Cane maschio, Kg. 7,500. — Preparazione dell'animale identica a quella dell'esperienza precedente. Servendomi di una slitta di *Du Bois Reymond* ho stimolato con corrente indotta bene sopportabile alla lingua, per un periodo variabile da 5 a 15 minuti secondi, delle anse intatte, comprendendole tra le branche ricurve di un eccitatore speciale. Osserverò in via generale che le reazioni allo stimolo elettrico in tutte le loro fasi, erano assai più pronte ed energiche di quelle dovute allo stimolo salino.

Ad ogni eccitazione si otteneva la formazione di una strozzatura locale a cingolo, e subito dopo (talora anche durante il compiersi di questa) si osservavano onde di contrazione nel tratto soprastante al punto eccitato, il cui effetto finale era la contrazione generale più o meno intensa del tratto stesso (2–5 cent.), mentre a valle del cingolo l'intestino rimaneva in riposo.

In sul principio dell'esperienza, ad animale fresco, si potè constatare, quasi sempre in modo chiarissimo, dopo o durante il rilasciamento del tratto superiore, l'entrata in azione del tratto inferiore già osservata con l'azione del NaCl.

Anche in questa esperienza come nelle precedenti, la contrazione del tratto superiore, che non mancò mai, avvenne talvolta per effetto di una serie di oscillazioni ritmiche, più o meno rapide, che animavano per qualche tempo il tratto in tutta la sua estensione; più spesso però, contrariamente a quanto si osservò nell'eccitazione salina, per il discendere verso

il punto stimolato di un'onda contrattile sorta in alto a qualche distanza dal cercine iniziale.

Quanto al tratto inferiore la sua contrazione fu sempre più lenta e meno energica di quella del superiore ed ebbe per lo più una manifesta direzione discendente.

In nessun caso ed in nessuno dei due tratti mi fu dato constatare il propagarsi in alto di un'onda contrattile.

**Esperienza del 15 Febbraio 1901.** — Canino del peso di Kg. 3. — Preparazione dell'animale identica a quella delle esperienze precedenti con questo in più, che, curarizzato l'animale, cominciata la respirazione artificiale ed aperto l'addome, il cane viene immerso in un bagno di soluzione fisiologica a 38°, entro il quale si fanno le osservazioni sull'intestino, elevando ben inteso fuori dal liquido l'ansa che si eccita per il breve momento dell'eccitazione. In queste favorevoli condizioni gli effetti degli stimoli con corrente indotta furono pronti ed evidentissimi.

Eccitazioni della durata di 5″ a 15″. Dividendo l'osservazione in due periodi abbiamo che nel 1° periodo si succedevano questi fatti: reazione locale, poi contrazione piuttosto energica nel tratto soprastante allo stimolo (2–4 cent.) mentre il tratto sottostante rimaneva inerte. In un 2° periodo poi si aveva un lento e più o meno completo rilasciamento del tratto superiore seguito, od anche accompagnato in sulla fine, da lievi ma visibilissime ondulazioni nel tratto inferiore, ondulazioni relativamente rapide avendo le due fasi, in un dato punto, la durata complessiva di 5″–6″. Queste ondulazioni non diedero che qualche volta, per effetto finale, una rilevante contrazione generale del tratto inferiore: per lo più il diametro di questo tratto non diminuiva che di poco.

Quanto all'andamento delle contrazioni vedansi le esperienze del 4 e del 7 febbraio. Il cingolo iniziale è sempre l'ultimo a scomparire del tutto.

**Esperienza del 19 Febbraio 1901.** — Aperto il ventre ad un giovane coniglio si studiano gli effetti della corrente indotta sull'intestino. Lo stimolo, più debole di quello impiegato nelle esperienze sui cani, applicato anche soltanto per 3″-5″ diede per risultato quasi costante, dopo il solito cingolo che si formava rapidissimamente, una pronta ed energica contrazione del tratto superiore, (1–3 cent.) con carattere quasi costante di simultaneità, la quale si propagava poi più o meno rapidamente in basso, attenuandosi, talora anche prima che il tratto superiore incominciasse a rilasciarsi; in qualche caso la successione delle due contrazioni fu così rapida che ad un esame meno attento queste potevano apparire contemporanee. In nessun caso si ebbe propagazione verso l'alto nè contrazione a valle in primo tempo; si attenuò invece e mancò qualche volta questa contrazione del tratto inferiore in sul finire dell'esperienza [1].

---

[1] A questo proposito devo notare che anche in questi esperimenti, come in tutti gli altri su animale vivo, la intensità, la durata, la pron-

**Esperienza del 22 Febbraio 1901.** — Cane di Kg. 12,300. — Sotto narcosi cloroformica intensa si apre l'addome e si cimentano punti diversi dell'intestino con corrente indotta bene sopportabile alla lingua, ottenendo risultati pienamente conformi a quelli rilevati sotto l'azione del curaro nelle esperienze del 7 e del 15 febbraio.

Le stimolazioni meccaniche, ripetute più volte in diversi animali, stringendo moderatamente per qualche secondo un'ansa intestinale tra le branche di una pinzetta, han dato risultati conformi ai descritti, con questo però di particolare che i fenomeni successivi alla formazione del cingolo mancavano spesso ed erano, in ogni caso, più lievi non solo di quelli dovuti alla corrente indotta, ma anche di quelli provocati dallo stimolo chimico.

Riassumendo le esperienze esposte e le altre che ho omesso per brevità, posso affermare che, eccitando con stimoli meccanici, chimici od elettrici l'intestino di mammiferi cloroformizzati o cautamente curarizzati, sia in bagno di soluzione fisiologica a 38° che con intestino esposto all'aria, come pure di quelli non sottoposti all'azione di alcuna sostanza si hanno costantemente i seguenti effetti, i quali però posson variare assai per la loro durata e per la loro intensità ed anche manifestarsi in modo incompleto.

In un primo momento si ha una contrazione ad anello sempre energica nel punto stimolato, dopo la quale compaiono delle contrazioni in un breve tratto soprastante allo stimolo, mentre il tratto sottostante rimane inerte e rilasciato; dopo un tempo molto variabile poi le contrazioni energiche che si erano manifestate nella parte alta passano, per così dire, attraverso al cingolo e si diffondono, attenuandosi assai, per qualche tratto al disotto del punto stimolato.

---

tezza, l'evidenza dei singoli fenomeni erano molto varie a seconda del grado di eccitabilità in cui si trovava l'intestino degli animali sperimentati; tanto che, quando esso per il raffreddamento, per i maneggi e per i ripetuti stimoli cominciava ad esaurirsi, le reazioni erano *incomplete*, o molto lievi e talora nulle, pur rinforzando l'intensità dello stimolo. Si comprende pure come, se al momento della eccitazione l'ansa non è perfettamente rilasciata, ma presenta già un tono muscolare rilevante, gli effetti dello stimolo debbano essere attenuati ed oscuri nelle loro manifestazioni. È soltanto da un gran numero di osservazioni, fatte nelle migliori condizioni possibili, che può essere ricavato un concetto esatto dell'andamento normale di questi fenomeni.

Questo comportamento era così costante che io poteva determinare (in pochi secondi con la corrente indotta) la direzione di un'ansa qualsiasi, osservando l'effetto dello stimolo; il che potrebbe avere un'utile applicazione in alcuni casi chirurgici.

Risulta dunque da quanto fu esposto che *non sono mai riuscito*, con gli stimoli indicati, a produrre una contrazione antiperistaltica. È però altrettanto vero che la contrazione peristaltica incomincia sempre *in sopra* del punto stimolato, a volte anche di parecchi centimentri; tanto che, con un'osservazione superficiale ed affrettata, la quale si fosse limitata alla prima fase, sempre più appariscente, avrei potuto giudicare trattarsi di contrazione antiperistaltica, specialmente in quei casi, in cui i fenomeni della seconda erano molto tardivi ed attenuati o mancanti. Soltanto l'osservazione attenta e prolungata del fenomeno poteva correggere il mio giudizio e dare a quel primo fatto il suo vero significato, quello di *inizio della contrazione peristaltica.*

A proposito di quelle diverse modalità del fenomeno e delle affermazioni di vari osservatori intorno all'effetto motorio degli stimoli sull'intestino, devo fare qui alcune considerazioni, tenendo conto anche delle numerosissime esperienze da me eseguite sull'intestino di rana, impiegando stimoli meccanici, chimici ed elettrici.

Dicono gli autori (*Engelmann*, *Nothnagel*, ecc.) che, eccitando l'intestino con stimoli vari, la contrazione che si produce nel punto stimolato si propaga in ambo le direzioni dell'intestino stesso; anzi in alcuni casi sarebbe dato constatare che il movimento si propaga più estesamente all'insù che all'ingiù, ciò avverrebbe per esempio per azione di un cristallo di NaCl che nella rana produrrebbe appunto una contrazione propagantesi verso l'alto, mentre un cristallo di KCl non dà che uno spasmo locale. *Horwath*, alla sua volta, riconobbe che correnti indotte deboli producono onde contrattili in ambedue le direzioni.

Come si vede, il fatto dell'entrata in azione dei due tratti soprastante e sottostante allo stimolo per effetto dello stimolo stesso, era già stato constatato ripetutamente dagli osservatori

che mi hanno preceduto; soltanto essi, preoccupati sopratutto dalla constatazione del fatto, che appariva strano, della reazione *in alto*, non hanno forse fissata a sufficienza la loro attenzione sui rapporti cronologici costanti delle due contrazioni e sulla direzione di queste.

Non mancano del resto circostanze di fatto le quali ci spieghino, fino a un certo punto, come quelle prime osservazioni possano esser riescite incomplete od anche inesatte in qualche punto. In molte delle mie esperienze, sopratutto in quelle colla corrente indotta e quando l'intestino era molto eccitabile, il succedersi delle contrazioni a monte ed a valle era così rapido che, come si disse a proposito dell'esperienza del 19 febbraio, ad un esame meno attento esse potevano apparire contemporanee.

Ma la circostanza che più di ogni altra, a parer mio, può darci ragione delle non lievi discrepanze tra i risultati degli osservatori citati e i miei sta in ciò, che quelli furono per lo più il frutto di osservazioni fatte sulle rane.

Per questo ho creduto opportuno di ripetere a lungo queste ultime esperienze sulle reazioni dell'intestino di rana ai diversi stimoli e di riassumerne qui i risultati.

### *B. Rane.*

S'intende che l'apertura dell'addome deve esser fatta in modo da disturbare il meno possibile lo stomaco e gli intestini, per evitar di vederli reagire qua e là prima ancora di iniziare l'esperienza, e che su ogni animale non si possono fare, con risultati attendibili, più di 3 o 4 prove.

Dirò subito che questo studio mi ha convinto che la rana è animale poco adatto a fornire dati, da cui si possa cavare un concetto chiaro ed esatto sul fenomeno della peristalsi intestinale, specialmente quando la si esamina nella stagione invernale come è toccato a me. La eccitabilità dell'intestino è talmente torpida, le reazioni sono per lo più così lievi e così tarde, il diametro dell'intestino è spesso talmente esiguo, da rendere molto difficile l'apprezzamento delle modificazioni che insorgono, anche se osservate colla massima diligenza e col-

l'aiuto di una lente. A ciò aggiungasi il fatto che, dato il ritardo e la lentezza quasi abituali delle reazioni provocate e date le modificazioni che sempre avvengono, dopo qualche minuto dall'apertura dell'addome, indipendentemente da ogni stimolo applicato; è difficile in molti casi decidere se una data modificazione che insorge in prossimità di un punto stimolato stia realmente in rapporto coll'eccitazione fatta o non sia effetto delle condizioni anormali in cui si trova l'organo intero.

Ciò che è sempre evidente, qualunque sia lo stimolo, è la reazione locale, ossia la strozzatura a cingolo più o meno completo che si forma nel punto d'applicazione dello stimolo e che, secondo ogni probabilità, è dovuta all'azione diretta di esso sulle fibre circolari sottostanti; ma per ciò che riguarda la reazione sempre lentissima dei tratti soprastante e sottostante, dovuta certamente all'azione del plesso gangliare di *Auerbach*, i risultati sono spesso molto oscuri.

Non tenendo conto di molte esperienze sulle quali sarebbe stato azzardoso, per tutte le ragioni esposte, il formulare un giudizio, posso affermare, basandomi su un centinaio almeno di buone osservazioni, quanto segue:

*Categoria* a). — In pochi casi gli stimoli meccanici o chimici non diedero che una reazione locale più o meno pronta; rarissimi furono quelli in cui si ebbe questo solo effetto mediante lo stimolo elettrico (debole corrente indotta).

*Categoria* b). — Abbastanza numerosi invece furono i casi nei quali lo stimolo fece entrare in azione, dopo un tempo variabile da pochi secondi a 2 minuti, il solo tratto soprastante al cingolo locale. Ed in questi casi la contrazione, sempre debole e lenta, presentò caratteri diversi: mentre per solito essa era costituita da un restringimento uniforme e simultaneo del detto tratto in tutta la sua estensione, sì che era impossibile attribuire una direzione al movimento contrattile; qualche volta invece questa *direzione dell'onda* era evidente, ed andava sempre dall'alto al basso a partire da un punto più o meno prossimo a quello stimolato.

Gli eccitamenti col NaCl, oggetto particolare delle osservazioni del *Nothnagel*, furono studiati con cura speciale e die-

dero il seguente risultato: nel maggior numero di casi lo stimolo salino provocava, dopo il cercine locale, la lenta e simultanea insorgenza di onde di contrazione lungo un tratto più o meno esteso (5-15 mm.) al disopra del punto stimolato, senza che fosse rilevabile una successiva o contemporanea reazione nel tratto sottostante.

In rari casi però, che rientrano nella successiva categoria c) la stimolazione salina provocò in un secondo tempo anche una reazione visibile nel tratto inferiore.

*Categoria* c). — In due terzi circa delle osservazioni raccolte (quasi tutte riferentesi a stimolazioni elettriche e meccaniche) si ebbe, come nei mammiferi la *reazione completa,* con intervento dei tratti contigui al punto eccitato e con fenomeni più cospicui in alto che in basso per estensione e per intensità; ed anche qui ho osservato che, quando era possibile stabilire una direzione dell'onda contrattile, il che avveniva molto più raramente che nei mammiferi, questa era sempre discendente, tanto nel tratto superiore che nell'inferiore.

Quanto alla *successione* delle due contrazioni, che tanto interessa il nostro argomento, ho trovato che, salvo casi eccezionali in cui esse apparivano contemporanee, la contrazione a monte precedeva sempre quella a valle, la quale, oltre essere più lieve, era anche *molto tardiva*, facendosi attendere qualche volta fin due o tre minuti; tanto che non mi meraviglia che in casi analoghi si possa aver dato giudizio di contrazione unica nel tratto superiore.

Riassumendo i risultati di queste osservazioni sulla rana, si vede che anche in essa dobbiamo escludere la produzione di contrazioni antiperistaltiche, e che se in numerosi casi la reazione agli stimoli fu incompleta (categorie *a* e *b*), in due terzi circa delle osservazioni si ebbe una reazione identica, nei suoi caratteri essenziali, a quella constatata nei mammiferi.

Questi risultati, che furono raccolti con scrupolosa attenzione, ci rendono ragione di tutte le affermazioni emesse in proposito dagli Autori precedenti e citate più sopra. La reazione in sopra e in sotto dello stimolo da me osservata nella gran maggioranz dei acasi, spiega come *Engelmann*, *Noth-*

*nagel*, *Horwath* ed altri abbiano potuto dire, non prestando sufficiente attenzione all'ordine cronologico dei fenomeni ed alla direzione del movimento, che la contrazione « *si propaga in ambo le direzioni* ». La maggior energia ed estensione della contrazione a monte rispetto a quella a valle spiega l'affermazione che, in alcuni casi, il movimento « *si propaga maggiormente all'insù che all'ingiù* ». — Infine la costanza della contrazione in alto (la sola veramente necessaria) nei casi di reazione incompleta, ci spiega come si sia potuto dire che alcuni stimoli « *dànno solo reazione in alto* ».

Accennerò da ultimo ad un fatto banale da me osservato parecchie volte ed il quale può avere contribuito, in qualche caso di eccitazione intestinale, a simulare nel tratto superiore un'onda contrattile ascendente. È evidente che quando la porzione cimentata dell'intestino contenga, come avviene spesso, dei materiali solidi, questi verranno *in parte* spostati in alto man mano che va accentuandosi la contrazione al disopra del punto eccitato; ora questa massa di forte consistenza che viene lentamente spinta in alto può dare, attraverso le pareti intestinali, la parvenza di un'onda di contrazione ascendente anche quando questa non esiste: io stesso sono caduto qualche volta da principio in questo errore.

Possiamo dunque concludere in via generale che una stimolo applicato sull'intestino porta due effetti bene distinti: un cingolo locale forte e di lunga durata il quale, come si disse, è probabilmente dovuto alla eccitazione diretta delle fibre muscolari del punto stimolato, e che non insorgerà forse con caratteri tanto spiccati nella peristaltica normale, per la mancanza di stimoli così energici e localizzati quali son quelli usati da noi; poi una contrazione peristaltica, la quale verosimilmente è dovuta all'azione degli apparecchi nervosi dell'intestino, e che interessa successivamente il tratto superiore e l'inferiore.

Se noi consideriamo ora questi fenomeni motori in rapporto alla innervazione motrice e inibitrice dell'intestino, potremo dire che *in un primo tempo* si ha eccitazione alla con-

trazione in sopra ed inibizione in sotto dello stimolo; condizione necessaria questa, dal punto di vista meccanico della funzione, essendo evidente che, perchè un corpo straniero contenuto nel tubo intestinale, possa essere spinto nella direzione fisiologica, ossia in basso, è indispensabile che una forza lo prema dall'alto e nessuna forza gli resista dal basso.

Come si vede, questo risultato si accorda con quelli ottenuti e così bene analizzati da *Bayliss* e *Starling* per mezzo dell'enterografo in un'ansa intestinale tagliata agli estremi e nella quale avevano introdotto per il capo superiore un fiocco di cotone spalmato di vasellina (1). Ed accetto anch' io, con qualche riserva, la legge da essi formulata: « *La stimolazione locale del tubo intestinale produce eccitamento al disopra e inibizione al di sotto del luogo stimolato* », la quale è conforme alle osservazioni precedenti del *Colin* e di *van Braam-Houckgeest* fatte colla semplice ispezione.

Ma a me risulta, come si è visto, che nel maggior numero dei casi, e quando l' intestino è in buone condizioni, l'eccitamento a monte dello stimolo non si limita a quella zona che in un primo tempo, dopo il quale la eccitazione si propaga anche al disotto; e, si noti bene, ciò avviene in seguito ad una stimolazione unica in un punto determinato, non per la presenza interna di un bolo che scenda lungo il tubo trasportando così sempre più in basso la sede dello stimolo.

*Bayliss* e *Starling* constatarono nelle loro esperienze che subito dopo l' introduzione del bolo per l'apertura superiore dell'ansa, insorge la contrazione del segmento d' intestino immediatamente soprastante ad esso, la quale cresce progressivamente, finchè diventa una contrazione tonica, capace di spingere in avanti il bolo stesso; a misura poi che questo si muove, la contrazione anelliforme lo segue, finchè il bolo viene espulso per l'apertura inferiore dell'ansa.

La legge enunciata dai detti Autori è dunque vera ed esprime bene e completamente il fenomeno, quando la causa dello stimolo obbedisce, come fa appunto il bolo intestinale,

(1) *Bayliss and Starling*, (The Journal of Physiology, XXIV, 1899).

alla pressione che giunge dall'alto e viene quindi spostato continuamente in modo da mantenersi sempre a valle della zona eccitata.

Ma ciò che vi è di interessante, e che mi pare valga la pena di esser rilevato, è questo: che se anche le accennate condizioni fisiologiche non si verificano, se anche (come avveniva appunto nelle mie esperienze) lo stimolo non consiste in un corpo spostabile contenuto nel lume dell' intestino, ma è fisso e di natura affatto diversa, elettrica, chimica, ecc. La reazione motoria intestinale avviene egualmente e conserva quelle modalità e quei caratteri che le sono propri e che sono coordinati al suo scopo finale. Nelle esperienze descritte infatti gli stimoli, e per la loro natura e per la loro sede, non erano tali da poter essere eliminati con una contrazione di chiusura in alto ed un successivo movimento contrattile discendente; eppure tali furono i caratteri essenziali delle reazioni provocate; il che ci dimostra che il comportamento costante dell' intestino di fronte agli stimoli in genere è stabilmente legato allo scopo fisiologico normale da raggiungere, e profondamente organizzato negli ordegni nervosi relativi.

## Occlusione artificiale dell' intestino.

In ordine a considerazioni cliniche sulla occlusione intestinale, per le quali il così detto vomito fecale veniva invocato quale argomento per l' esistenza di contrazioni antiperistaltiche, appariva opportuno di praticare sperimentalmente l' occlusione nei cani, legando l' intestino tenue a varie altezze. Operando in condizioni asettiche e sotto narcosi cloroformica si estraeva l' ansa su cui si voleva determinare lo strozzamento, e la si legava traversalmente con un grosso laccio in modo da obliterare completamente il lume dell' intestino. — Gli animali operati furono 10, in uno dei quali si ebbe perforazione intestinale in corrispondenza del laccio, per cui l' animale morì di peritonite in quarta giornata. In due casi il laccio tenne bene, ma l' intestino, tagliato gradatamente dal laccio stesso, si saldò

man mano dietro di esso: i due cani sopravvissero benissimo, ed uccisi dopo qualche giorno si trovò alla necroscopia il laccio passato all'interno e trattenuto solo in qualche punto della mucosa, mentre circolarmente all'intestino era visibilissima la cicatrice di passaggio.

Degli altri sette animali, i soli che ci interessano, quattro furono operati di legatura immediatamente al disopra della valvola ileo-cecale od a qualche centimetro appena; uno del peso di kg. 8 a cent. 55 sopra al ceco; uno di kg. 12 a cent. 110 dal piloro, e l'ultimo di kg. 6 a livello dell'estremità della branca discendente del pancreas.

Due degli animali con legatura al ceco furono uccisi colla puntura del bulbo dopo tre giorni completi dall'operazione; tutti gli altri morirono in collasso in un tempo variabile dai tre ai sette giorni. Alcuni di questi cani, compreso quello con legatura a cent. 110 dal piloro che visse 6 giorni, mangiarono con discreto appetito a partire dal 2° giorno fino a 24 ore circa dalla morte; altri invece rifiutarono sempre il cibo o mangiarono pochissimo e svogliatamente. Tutti, meno uno, ebbero vomiti frequenti, spesso commisti a bile, e *in tre casi* (con legatura in prossimità del ceco), *la materia vomitata, che era liquida, torbida e brunastra, aveva odore distintamente fecale.* Quasi tutti nel periodo di sopravvivenza defecarono una o più volte, e tutti orinarono abbondantemente emettendo un'urina che conteneva spesso molta urea e molto pigmento biliare e talora tracce d'albumina.

Alla necroscopia di questi sette animali si trovarono sempre le anse perfettamente libere tra loro, nè mai si trovò traccia di peritonite; si riscontrò invece, come fatto costante, una dilatazione piriforme o fusiforme dell'intestino immediatamente in sopra del punto di occlusione. Al disopra di questo rigonfiamento il tenue aveva i suoi diametri abituali ed era vuoto, contenendo solo dei gas in discreta quantità; talora però in qualche tratto si trovavano piccole quantità di liquido più o meno denso, giallastro o brunastro. La parte di tenue che rimaneva in alcuni animali al disotto della legatura era vuota; il crasso, vuoto pure in alcuni casi, conteneva in altri piccole

quantità di feci dure. La mucosa di tutto l'intestino era per lo più di colorito normale, tranne che nella zona e nelle vicinanze della dilatazione succitata ove era quasi sempre fortemente iperemica. Lo stomaco, ordinariamente vuoto o contenente poco muco verdastro per bile, conteneva in un caso del liquido di un odore fortemente sgradevole come di materia putrefatta.

La dilatazione intestinale che costantemente si trovò, era più o meno allungata, comprendendo un tratto di 15 a 50 cent. circa a partire dalla legatura ed aveva un diametro massimo di 3 a 5 centim., essendo quello normale del tenue nei singoli casi di uno a due. Essa era dovuta ad uno accumolo più o meno abbondante di materiali semiliquidi e di gas nella parte superiore del rigonfiamento; materiali che si facevano poltacei più in basso, assumendo una consistenza sempre maggiore quanto più erano prossimi alla legatura, in vicinanza della quale, *e là soltanto*, si trovarono spesso materiali solidi indigeribili come ossicini, pagliuzze, peli, ecc.; per cui è legittimo supporre che contrazioni antiperistaltiche attive non ne fossero avvenute, e che anzi una peristaltica a direzione costante li avesse accumulati a ridosso della legatura.

La massa che si trovava a livello del rigonfiamento aveva inoltre odore di putrefazione e di feci, tanto più intenso e caratteristico quanto più la legatura era in basso; e si comprende infatti come, arrestandosi la circolazione del contenuto intestinale pigliassero il sopravvento i fenomeni di decomposizione intestinale anche là dove, in condizioni normali, non avvengono o sono scarsi [1].

Se ora consideriamo che i materiali liquidi o semiliquidi dell'intestino possono scorrere anche a ritroso *senza bisogno di speciali attive contrazioni dell' intestino* come fu dimostrato [2], potremo spiegarci come nei casi clinici di occlusione possano arrivare perfino nello stomaco dei materiali liquidi coi loro caratteri fecali, senza che per ciò sia necessario l' intervento di

(1) Nel caso di legatura a livello dell'estremità inferiore del pancreas il contenuto duodenale era quasi inodoro.

(2) Sabbatani L. e Fasola G., *Sulla funzione motoria dell' intestino.* (Lo Sperimentale, Anno 1900, fasc. 4).

vere azioni antiperistaltiche. Queste sarebbero indispensabili per spiegare il regresso di materiali solidi, ma, come ho detto, in tutte le mie esperienze questi materiali erano costantemente confinati in prossimità della legatura.

Si potrà dunque concludere che il cosidetto vomito fecale, che si osserva nei casi di occlusione intestinale, inteso nel senso da noi dimostrato, perde ogni valore come argomento in favore dell' esistenza di movimenti antiperistaltici.

## Conclusione.

Tenendo conto di questi ultimi risultati e di quelli forniti dalla stimolazione intestinale nei mammiferi e nelle rane e riassunti alla fine del capitolo relativo, mi pare di poter sostenere con maggior sicurezza l' affermazione già enunciata in un precedente lavoro, e cioè: *che mai, nè in condizioni fisiologiche, nè in condizioni patologiche hanno luogo nell' intestino vere contrazioni antiperistaltiche;* aggiungendo oggi che tutti i fatti portati finora in appoggio della tesi contraria o sono suscettibili di una spiegazione che la esclude, o vanno corretti da un' osservazione più attenta.

Istituti Biologici della R. Università di Cagliari.
Luglio 1901.

---

Appendice. — Ho letto poche settimane fa nella *Gazzetta degli ospedali* del 10 settembre di quest'anno la breve recensione di un lavoro pubblicato in questo stesso anno 1901 da *Enderlen* ed *Hesse* nella *Zeitsch. f. Chirurgie*, LIX, e che riguarda la peristaltica intestinale.

In questo lavoro, che ho segnato nella Bibliografia, sono esposti i risultati del capovolgimento totale del tenue in cinque cani e del capovolgimento parziale (40 cent. di digiuno) in tre cani.

Gli Autori riferiscono che, mentre i primi cinque morirono tutti in pochi giorni, gli altri tre sopravvissero più a lungo, fino a un massimo di 73 giorni. Riferiscono pure che uno di questi ultimi animali venne sottoposto, prima di essere sacrificato dopo 49 giorni, ad un esame elettrico del segmento capovolto, il quale reagì con movimenti peristaltici, ossia diretti verso l'estremo anale. — Gli Autori concludono da questi fatti *che l'intestino può veramente abituarsi al movimento antiperistaltico, ossia in una direzione opposta alla normale;* e stimano che, contrariamente all'opinione moderna, l'*antiperistaltismo è un fattore del quadro clinico dell' ileus.*

Non avendo potuto procurarmi il lavoro di *Enderlen* ed *Hesse*, io non so se questi Autori abbiamo avuto conoscenza di quanto abbiamo pubblicato nel 1899 e nel 1900 il Prof. *Sabbatani* ed io.

Ma vedo con piacere che, per ciò che riguarda gli effetti comparativi del capovolgimento totale e parziale del tenue nei cani, i risultati ottenuti dai due tedeschi confermano a puntino quelli pubblicati da noi un anno prima ed ottenuti da una serie di 24 animali.

Per ciò che riguarda poi l'*adattamento*, che essi ammettono, da parte del tratto capovolto, alle nuove condizioni in cui vien posto, cioè *l'abitudine* che esso prenderebbe di contrarsi in senso antiperistaltico, abitudine che viene invocata per spiegare la sopravvivenza degli animali operati, io mi permetto di fare agli Autori una semplice domanda. Se è vero che l'intestino capovolto si adatta alle sue nuove condizioni, come mai avviene che tutti gli animali, *tutti* quelli di *Enderlen* ed *Hesse* come i nostri, come quelli degli altri sperimentatori, non sopravvivono a quell'operazione che per qualche settimana o tutt'al più per qualche mese, *anche quando il tratto capovolto non raggiunga nemmeno il decimo della lunghezza del tenue?* — Ma a questo proposito io rimando gli Autori a quanto il *Sabbatani* ed io abbiam dimostrato per diverse vie e con metodi svariati nel nostro lavoro *Sulla funzione motoria dell' intestino*, pubblicato nel 1900 nello *Sperimentale* di Firenze.

Quanto infine ai risultati ottenuti coll'esame elettrico del

tratto capovolto ed alla questione dell'antiperistaltismo nell' *ileus*, ossia nel vomito fecale, io spero che i due Autori vorranno tener conto dei fatti raccolti in proposito nei due capitoli della presente memoria. G. F.

## Bibliografia.

PFLÜGER, Ueber d. Hemmungsnervensystem für die peristalt. Beweg. d. Darme, Berlin, 1857.
BUSCH, Virchow's Archiv. 1858.
NASSE, Beiträge zur Phys. der Darmbewegung, Leipzig, 1866.
S. MAYER und v. BASCH, Wien. Sitzungsber, LXII, 1870.
ENGELMANN, Pflüger's Archiv., II, 1869, IV, 1871.
VAN BRAAM-HOUCKGEEST, Ibidem, VI, 1872, VIII, 1874.
G. SALVIOLI, Du Bois Reymond's Arch. 1880. Archivio per le scienze mediche, V. 1882.
NOTHNAGEL, Zeitschrift f. klin. Med., VI, 1882. Phys. und Path. des Darms, Berlin, 1884.
EHRMANN, Wien. med. Jahresb., 1885.
KIRSTEIN, Deutsche med. Wochenschrift, 1889.
BECHTEREW und MISLAWSKY, Du Bois Reymond's Archiv. Suppl. 1889.
JACOBI, Archiv. für exp. Path. und. Pharm. XXIX, 1892.
KAUDERS, Centralbl. für Phys., VII, 1893.
COURTADE et GUYON, Archives de physiologie, 1897.
BUNCH, The Journal of Physiology, XXII, 1898.
SABBATANI e FASOLA, R. Accad. di Medicina di Torino, 1899.
BAYLISS and STARLING, The Journal of Physiology, XXIV, 1899.
GRÜTZNER Arch. f. d. ges. Phys. von Pflüger, LXXI, 9 und 10.
MÜSHAM R., Mittheilungen aus den Grenzgebieten der Medicin u. Chirurgie, VI, 1900 (Centralbl. f. Chirurgie, n. 10, 1900).
SABBATANI e FASOLA, Lo Sperimentale, anno LIV, f. 4, 1900.
ENDERLEN und HESSE, Zeitschr. f. Chirurgie, LIX, 1901.

Laboratorio di Medicina legale del R. Istituto di Studi Superiori in Firenze
diretto dal Prof. A. Filippi.

# CONTRIBUTO ALLO STUDIO DELLA FAUNA CADAVERICA

DEL

**DOTT. CESARE BIONDI**

Ajuto e Libero Docente.

Dopo la pubblicazione del *Mégnin* (¹) il quale, riprendendo con maggiore larghezza le osservazioni dell' *Orfila*, del *Tardieu* del *Lazzeretti* e di altri, elevava, per così dire, a corpo di dottrina lo studio della fauna cadaverica, si è sentita anche più profondamente l' utilità, che dalle ricerche entomologiche può venire alla soluzione di certi quesiti forensi. Ma, tanto scorrendo il lavoro del *Mégnin*, in certi punti forse un po' troppo schematico, quanto nel cimento dei casi pratici, ci accorgiamo come in ciò, che per adesso si sa della fauna cadaverica, vi siano delle lacune e delle incertezze e come forse alle specie, segnalate dal *Mégnin*, se ne debbano aggiungere altre, che è possibile siano proprie della fauna italiana.

È certo che uno studio completo e metodico sull'argomento presenta delle gravi difficoltà. A parte che non è facile davvero riprodurre o variare sperimentalmente le infinite condizioni, che possono influire sull' andamento del processo di putrefazione e sul verificarsi o meno di circostanze favorevoli alla vita di uno o dell' altro ospite del cadavere, rimane la incompleta conoscenza che si ha della biologia di molti di questi insetti, la quale dovrebbe pur servire di fondamento alle indagini sperimentali in proposito.

(¹) Mégnin, *La faune des cadavres*, Paris, Masson, 1894.

Molto potrebbe farsi intanto per la fauna delle tombe, quando si potesse riuscire a praticare una numerosa serie di esumazioni a varia distanza dalla morte, in varii terreni, scegliendo feretri sotterrati in varie epoche dell'anno, ecc., trovandosi insomma nelle favorevoli circostanze, che permisero all'*Orfila* di raccogliere il ricco materiale pel suo classico trattato delle esumazioni giuridiche. Allora forse si potrebbe, non fosse altro, stabilire quali specie abitino costantemente i cadaveri umani inumati, nei varii periodi delle loro trasformazioni, e quali invece vi si trovino soltanto sporadicamente.

Se però questi *desiderata* non sono davvero facilmente raggiungibili, se pure in certi casi il criterio entomologico si presenta come l'unico mezzo per giungere alla soluzione di certi quesiti forensi, non riusciranno pel momento del tutto inutili anche le osservazioni isolate, che valgano a segnalare qualche nuovo fatto, a diradare qualche dubbio, od a smorzare delle eccessive confidenze in ciò che, sull'argomento, sembra acquisito alla scienza.

Nel corso di questi ultimi due anni ho avuto occasione di praticare due esumazioni, l'una a 14 mesi, l'altra a 24 dalla morte, e di periziare i resti di un cadaverino abbandonato, sotto pochi sassi, nel letto di un torrente. In quest'ultimo caso le ricerche entomologiche ci furono di aiuto prezioso per stabilire l'epoca della deposizione del cadaverino nel luogo dove fu trovato; negli altri due ci condussero alla constatazione di specie non enumerate dal *Mégnin* e di alcuni fatti non trascurabili.

Mi sembra perciò opportuno, nella relativa penuria di casi del genere, il riportare queste tre osservazioni, le quali costituiscono un piccolo contributo allo studio di un argomento tanto importante, e pel quale, come accennavo, sembra così desiderabile una maggior completezza.

Ecco senz'altro i tre casi.

## I.

Nella notte dal 1° al 2 ottobre del 1899 i carabinieri di G., messi sull'avviso da una denuncia, rinvenivano nel letto di un

torrente presso L. alcune ossa involte in una ganga grassosa. Le ossa furono tosto identificate per ossa umane, e precisamente, in base alle opportune misurazioni, che non sto qui a riportare, ed ai raffronti colle tavole dell'*Harless-Severi* (1), del *Borri* (2) e del *Corrado* (3), per quelle di un feto giunto al termine della vita intrauterina. Sulle ossa stesse non si rinvennero traccie di traumatismi, nè ci apparvero difetti di ossificazione o traccie di processi patologici, che ci conducessero ad ammettere uno sviluppo meno che rigoglioso dell'organismo a cui le ossa stesse avevano appartenuto.

Nella ganga grassosa, che fu facilmente riconoscibile per adipocera, non si rinvenne traccia di organi. Così che andò perduta ogni speranza di stabilire se il feto era nato vivo o no, e ci dovemmo limitare ad affermarne la maturità ed una normale costituzione.

Il magistrato però ci richiedeva insistentemente di fissare, nonostante, il tempo, in cui poteva ritenersi con fondamento che fosse stato deposto in quel luogo il cadaverino.

Dallo stato delle ossa poco o nulla poteva dedursi; esse erano pulite, giallastre quali si osservano nei cadaveri in cui avvenne la completa trasformazione adipo cerea dei tessuti. Perciò in base allo stato di esse niente altro poteva dirsi se non che erano decorsi parecchi mesi dalla morte, almeno 6-7. Poco di più eravamo nel caso di affermare prendendo luce dall'essere i tessuti molli completamente trasformati in grasso cadaverico, poichè è noto come questa trasformazione possa avvenire nei corpi immersi sott'acqua nello spazio di 5 mesi (4) e talora anche di 3 o 4 soltanto (5). Nel caso in termini il cadaverino

---

(1) *Le tavole dell'Harless estese al periodo fetale ed al sistema osseo.* (Rivista fra i cultori delle scienze mediche, Siena, anno III, f. V, 1885).

(2) *La dimensione delle ossa lunghe degli arti del feto nell'ultimo trimestre della vita endouterina considerata in rapporto con la lunghezza totale del corpo.* (Sperimentale, anno XLIX, Sez. Clinica, fasc. 16, 1895).

(3) *Rapporti metrici fra le varie parti del corpo fetale ed altre considerazioni in ordine alla identità,* (Giornale della Associazione dei medici e naturalisti, Napoli, anno VII).

(4) Filippi, Severi, Montalti e Borri, *Manuale di medicina legale*, Milano, Vallardi, 1896, Vol. II, pag. 769.

(5) Ibidem, Vol. III, pag. 1117.

non era stato immerso nell' acqua, ma si era trovato nel letto di un torrente, a tale vicinanza dal corso dell' acqua da aversi le condizioni di massima umidità. Infatti, come si potè constatare nell' accesso sopra luogo, da me presenziato, i resti del cadaverino erano stati trovati deposti su di un fondo di galestro ed argilla in una specie di alveolo formato da 5 grosse pietre, le quali non combaciavano perfettamente, e sulle quali ne era deposta a guisa di lapide una sesta, in modo che anche tra questa e le altre rimanevano dei vani notevoli. Il fondo della cavità, sulla quale erano stati deposti, *ma non interrati*, questi avanzi cadaverici si dimostrò impregnato da permanente ed abbondante umidità per la immediata vicinanza del torrente.

Queste condizioni di fatto, che ci rappresentano quasi un *optimum* per la trasformazione adipo-cerea, non ci consentono perciò quindi di alzare molto al di sopra di 5 mesi il minimum di tempo necessario perchè fosse avvenuta, così completa come noi la constatammo, la modificazione cadaverica. Così che, per questo criterio isolato, noi avremmo dovuto affermare essere la deposizione del cadavere in quel luogo, e la morte avvenuta *non meno* di 6-7 mesi avanti il giorno del rinvenimento.

Fortunatamente ci soccorse nella soluzione del quesito il criterio entomologico, il quale ci guidò con tale esattezza da condurci a fissare, nei limiti necessari per le esigenze forensi del caso, il tempo della deposizione del feto fra i sassi del torrente.

Ricercando minuziosamente in mezzo ai blocchi di adipocéra, sul fondo della cavità, dove le ossa erano state trovate, sulle ossa stesse, abbiamo rinvenuto pochi gusci di crisalidi ed un buon numero di larve piccole, bianche, a movimenti vivacissimi, capaci anche di fare dei piccoli salti per qualche centimetro. Mancandoci l' insetto adulto, abbiamo dovuto rinunziare a determinare con esattezza a quale specie abbiano appartenuto alcune delle crisalidi vuote, che si trovavano aderenti alla faccia interna del parietale destro. Queste crisalidi vuote, lunghe millimetri cinque, di forma prismatico-triangolare, di colorito marrone chiaro, sembrano doversi riferire ad una

specie del genere *Phora* (¹). Altre poche crisalidi, di forma ovalare, lunghe mill. 12, di colorito marrone chiaro, munite di una lunga appendice, appartengono indubbiamente, dacchè avemmo la fortuna di ritrovare il cadavere di un insetto adulto, all' *Eristalis tenax L.* (*Fam. Syrphidae*). Le larve, che, come diceva, brulicavano a miriadi nei blocchi di adipo-cera, erano di colorito biancastro, lunghe circa 7 mill., vivacissime saltellanti e si aveva quindi ragione di sospettare che appartenessero ad una specie del genere *Phyophila*, le cui larve sono state appunto riscontrate sui cadaveri umani, allorchè è già compiuto quell'assieme di trasformazioni, che conduce all'adipocera. Del resto, per acquistare maggior sicurezza nella determinazione di queste larve, abbiamo abbandonato in un vaso di vetro coperto alcuni blocchi di adipo-cera, nei quali brulicavano abbondantissime le larve medesime, e ne abbiamo ottenuto, attraverso la metamorfosi di crisalide, un buon numero di piccoli ditteri, della lunghezza di circa 4 millimetri, col capo e torace di color nero lucente, coll' addome oblungo, striato trasversalmente in bruno oscuro coi bordi giallastri, colle zampe oscure, con tali caratteri insomma da farceli identificare per la *Pyophila petasionis* (*Dufour*).

Con questi elementi di fatto noi potemmo raggiungere, con una certa esattezza, la soluzione del quesito, che ci veniva proposto.

Il non aver trovate nè crisalidi nè cadaveri di quei ditteri (*Musca*, *Curtonevra*, *Calliphora*), che depongono le uova sui cadaveri freschi, e di cui si trovano abbondantissime le crisalidi morte sui cadaveri inumati di estate, ci fa ritenere che la morte del feto, da noi esaminato, sia avvenuta nei mesi d' inverno quando questi insetti non depongono le uova. La presenza delle larve di *Pyophila*, senza che di essa si siano trovate crisalidi vuote, o contenenti l' insetto in via di metamorfosi, ci conduce

(¹) È noto quanto siano numerose le specie del genere *Phora*. Lo Zetterstedt p. e. (*Diptera Scandinaviae*, 1848, Lundae, Vol. VII, p. 2847), ne descrive 87 specie; lo Schiner (*Fauna Austriaca*, *Die Fliegen* [Diptera], Wien, 1864, Vol. II, p. 345) ne ricorda ancora di più. È facile quindi intendere come, mancando l' insetto adulto, riesca impossibile determinare la specie a cui appartengono le crisalidi vuote.

a stabilire che, quando incominciarono i primi calori della buona stagione, non si fosse ancora giunti a quel grado di trasformazione cadaverica, che viene prediletta da questa specie di ditteri. Forse vi si arrivò nel pieno dell'estate, singolarmente umida e piovosa, ed allora la *Pyophila* depose le sue uova, ed al momento della scoperta del cadavere si trovarono le larve in piena attività. Ammesso quindi necessariamente per la mancanza di crisalidi di *Musca* ecc., che la morte sia avvenuta d'inverno non possiamo farla risalire al di là dell'inverno precedente a quello del rinvenimento, perchè altrimenti non ci renderemmo conto della assenza di crisalidi e di cadaveri di quei ditteri, che, come la *Lucilia*, l' *Ophyra* ecc., prediligono i cadaveri putrefatti e che avrebbero potuto deporre le uova nell' estate dell' anno avanti, e non ci spiegheremmo d' altra parte la presenza della *Pyophila* allo stato larvario.

Ora, se per questi motivi deve ritenersi che la morte sia avvenuta nell' inverno 1898-99, dovremo fissarla tra il gennaio ed il febbraio, per intendere come ai primi calori non si fosse ancora tanto avanti nelle modificazioni cadaveriche da preparare il terreno adatto alle uova di *Pyophila*. Se così non fosse, resterebbe senza spiegazione il fatto, cui accennava, di riscontrare al 1° di ottobre la *Pyophila* stessa ancora allo stato esclusivamente larvario e non già a quello di crisalide, se non d' insetto adulto.

Ed in questo senso di fissare fra il gennaio e il febbraio del 1899 la morte e la deposizione del feto nel borro di L. rispondemmo al quesito postoci dal Magistrato. Le ulteriori indagini vennero ad appurare che una ragazza, abitante nei pressi del torrente, era nell' inverno 1898-99 in stato di inoltrata gravidanza e che nel febbraio, in epoca non ben precisata, ebbe a sgravarsi, senza che si fosse veduto da alcuno il prodotto del concepimento. La ragazza continuò a mantenersi ostinatamente negativa sulla gravidanza e sul parto, nonostante le numerose e concordi deposizioni contrarie, aggiungendo, con questo suo contegno, una nuova prova che il feto, rinvenuto nel borro, fosse appunto quello da lei partorito. Nonostante l'azione penale cadde per la mancata certezza che il feto fosse nato

vivo, ed il processo passò agli atti con dichiarazione di non luogo a procedere.

Il caso è importante, anche che non abbia avuto un ulteriore svolgimento giudiziario, prima, perchè ci mostra come, senza il criterio entomologico, avremmo dovuto limitarci, secondo quanto più sopra ho accennato, a dichiarare che la morte era avvenuta da non meno di 7 o 8 mesi, senza ulteriore precisazione; poi perchè la data della morte e dell'abbandono nel torrente del cadaverino, fissata appunto in base alle indagini entomologiche, ebbe dalla prova specifica la più completa conferma.

Ma vi è di più. Noi nella valutazione del criterio entomologico non abbiamo tenuto conto delle poche crisalidi di *Eristalis tenax*, nè di quelle di *Phora*. L'*Eristalis tenax* non appare fra le specie, segnalate dal *Mégnin* come appartenenti alla fauna cadaverica, nè, che io sappia, è stata mai da alcuno osservata sui cadaveri umani. È una mosca che ha costumi rurali, e che vive in specie nei luoghi umidi e vola sui fiori, sui frutti, sui letamai; e che ha del resto un estesissimo *habitat;* le sue larve stanno nelle acque dei fossi, in quelle stagnanti, in quelle delle saline ed anche nei letamai ecc. (¹), hanno un tubo aerifero in fondo all'addome, e prima di trasformarsi lasciano l'acqua e si incrisalidano sotto terra. Questi costumi della *Eristalis*, sia allo stato adulto, sia a quello di larva, possono renderci conto del fatto da noi osservato. Il borro di L., nel luogo dove fu trovato il cadaverino, è largamente ombreggiato da piante, non ha molta pendenza, così che qua e là, anche dopo una piccola piena, si formano delle pozzanghere, nelle quali, data la forte umidità del fondo, l'acqua ristagna; condizioni tutte che ci spiegano come potesse esser visitato dalla *Eristalis*, d'altra parte, come abbiamo detto, largamente diffusa. Abbiamo notato poi come il posto, dove fu rinvenuto il cadaverino, fosse prossimo al corso dell'acqua, ed abbiamo ricordato come l'estate del 1899 fosse stata discretamente piovosa; condizioni queste favorevoli alla deposizione delle uova di *Eristalis* in quelle vi-

(¹) Lioy, *Ditteri italiani*, Milano, Hoepli, 1895, p. 175.

cinanze, appropriate allo sviluppo ed all'accrescimento delle sue larve. Probabilmente qualche larva, che si trovava in una delle piccole pozzanghere prossime al cadaverino, si è insinuata fra i sassi che lo nascondevano e si è incrisalidata in mezzo ai resti del cadavere stesso. La predilezione che queste larve hanno per le acque stagnanti, dove di regola si trovano sostanze organiche animali e vegetali in via di decomposizione, la loro presenza nei letamai, nei frutti fracidi ecc., ci fa pensare che esse non sdegnino anche il cadavere umano putrefatto, specie se posto in luogo umido, e ci spiega come possono essere penetrate, sebbene in scarso numero, fra i resti del feto sul principiare dell' estate. E di ciò ci dà una prova l' aver noi rinvenuto le crisalidi vuote, espressione dell' avvenuto ciclo evolutivo dell' insetto, poichè, dopo quanto abbiamo detto, essendo accertato che la deposizione del cadavere nel borro avvenne nel febbraio del 1899, dobbiamo ritenere che al principio dell'estate fosse già avanzata la putrefazione colliquativa degli organi interni e potesse la larva trovare un nutrimento simile a quello che rinviene nelle acque stagnanti, ecc. Perciò, mentre non si doveva nella discussione peritale tener conto della presenza di queste crisalidi, che rappresentava pur sempre un fatto nuovo nella entomologia cadaverica, adesso che l' epoca di deposizione del cadavere è divenuta una cognita, possiamo, calcolando i successivi momenti di decomposizione organica, e tenendo conto del compiuto ciclo evolutivo dell' insetto, affermare con tutta probabilità, che le larve di *Eristalis* possono prendere stanza ed incrisalidarsi su di un cadavere umano, restato esposto nelle condizioni da noi designate e giunto allo stadio di decomposizione putrida, ed inserire anche questa specie tra gli insetti della fauna cadaverica.

Un altro fatto, che, per essere isolato, e sconcordante cogli schemi del *Mégnin*, non poteva essere tenuto in gran conto nella valutazione peritale, è la presenza delle 5 crisalidi di *Phora* appartenenti a specie non determinata. Secondo il *Mégnin* le varie specie di *Phora* appartengono alla *5me Escouade des travailleurs de la mort*, e si troverebbero sui cadaveri insieme alle *Ophyrae* ma successivamente alle *Pyophilae* ed alle *Antomyae*.

Nel caso nostro, accanto alla *Pyophila*, ancora in stato larvario, abbiamo rinvenuto la *Phora*, a ciclo evolutivo già completato.

Il fatto non può davvero distruggere in modo assoluto il resultato di osservazioni assai numerose quali sono quelle del *Mégnin*, perciò, come non gli detti valore nella trattazione peritica del caso, così, registrandolo adesso, non intendo dargliene eccessivamente, neanche da un punto di vista generale. Tanto più che si può presentarsene una spiegazione soddisfaciente, vista la sede in cui furono ritrovate le crisalidi di *Phora*, cioè sulla faccia interna del parietale. Si sa quanto facilmente e sollecitamente vada in putrefazione l'encefalo nei feti e nei neonati [1], nei quali non è raro trovarlo ridotto ad una poltiglia quasi fluente, anche quando si accennano appena delle macchie verdi all'addome. Nulla di strano quindi che al principiare dell'estate, una volta apertesi le valve craniensi, siano state deposte dagli insetti, richiamati dalle esalazioni ammoniacali della sostanza cerebrale in avanzata decomposizione, alcune uova di *Phora*, le cui larve, avendo trovato un convenniente nutrimento soltanto nei prodotti putrefattivi dell'encefalo, si siano incrisalidate esclusivamente ed in così scarso numero sull'osso parietale.

Ho detto che non volevo dare al fatto della presenza della *Phora* un' eccessiva importanza, però l'aver trovato le crisalidi di questo dittero in prossimità dell'organo, che in quel dato cadavere deve essere stato tra i più solleciti, se non il più sollecito, a putrefarsi, mi fa balenare il sospetto che nei periodi più avanzati della putrefazione possano forse non essere così nettamente distinte nello stesso cadavere le « Escouades » del *Mégnin*. Quando pel processo putrefattivo si giunga più o meno sollecitamente alla apertura delle cavità, non deve essere difficile che si ripeta il fatto, da me osservato nel feto di L., perchè, mentre alcuni visceri (fegato, milza, ecc.) possono essere così innanzi nella decomposizione da offrire esca alle *Ophyrae*, ed alle *Phorae*, altri tessuti, p. e., il muscolare, possono volgere a trasformazione adipo-cerea e albergare la *Pyo-*

---

[1] Confr. Filippi ecc., op. cit., Vol. III, p. 1109.

*phila* o qualche coleottero. Perciò mi pare raccomandabile, nei casi pratici, di notare con esattezza in quale organo o tessuto si ritrovino i singoli insetti riscontrati nel cadavere, tenendo conto parallelamente del diverso grado di putrefazione a cui sono giunti i respettivi organi e tessuti, per poter poi valutare convenientemente i fatti nel giudizio sintetico.

## II.

Si tratta di una esumazione eseguita nel Cimitero della Scala a S. M.... 14 mesi dopo l'interramento. Non parlerò qui delle particolarità del caso, importantissimo sotto molti punti di vista, e mi limiterò a ricordare come essendo sorti dei sospetti sulla causa di morte di Don D. B. di anni 69, deceduto il 20 agosto del 1898, l'autorità inquirente del Tribunale di S. M.... ne ordinava l'esumazione il 20 ottobre dell'anno successivo.

Il Cimitero è situato sopra una collinetta esposta ai venti di tramontana, il terreno, argilloso, è compatto ed asciutto. La cassa costruita di solide tavole di castagno era inumata alla profondità di m. 2 secondo prescrive l'art. 58 del regolamento di polizia mortuaria, e non appariva menomamente sconnessa. Apertala si vide il cadavere rivestito degli abiti sacerdotali in discreto stato di conservazione con un uno sciame di piccole mosche di colore verde scuro splendente, che continuarono a volargli intorno senza cercare di allontanarsi anche durante il corso delle nostre operazioni. Diceva che il cadavere di uomo asciutto, (morto come potemmo indurre, nel pieno della salute, per un meccanismo misto di soffocazione e di inibizione), era straordinariamente bene mantenuto in stato di mummificazione tanto che fu possibile rendersi conto esatto delle condizioni degli organi e dei tessuti.

Sulle pieghe degli abiti, in specie agli arti, ai lati del tronco, alle ascelle ed agli inguini si trovarono, a miriadi, dei gusci di crisalidi vuote, ma intatte, di colorito quasi roseo, lunghe circa millimetri quattro, che raccogliemmo insieme ai

piccoli ditteri di cui abbiamo tenuto parola. Nessun altro insetto, nessuna altra specie di gusci di crisalidi potemmo trovare fra gli abiti, che diligentemente esaminammo, nè sul cadavere, nè sul fondo della cassa. Sulla faccia e sul cuoio capelluto, tanto ben conservati che potemmo accertare l'esistenza ed il grado di 2 suffusioni ecchimotiche una alla fronte e l'altra all'occipite, si notava la deposizione di muffe. I ditteri raccolti furono identificati per l'*Ophyra antrax (Fam. Anthomyidae)* ed a questa specie appartengono pure le crisalidi vuote, che abbiamo descritto.

A parte la singolarità della conservazione del cadavere in mummificazione, che ci può essere spiegata dalla asciuttezza e dalla sanità dell'individuo morto rapidamente, dalla peculiare posizione del Cimitero esposto al sole ed ai venti di tramontana, e dalla scarsissima umidità del suolo, noi abbiamo in questo caso tre fatti non trascurabili dal punto di vista dello studio della fauna cadaverica.

In primo luogo essendo qui conosciuta la data della morte (20 agosto) è da stupirsi come non si siano trovate nella cassa crisalidi e cadaveri delle specie di *Curtonevra* e di *Calliphora*, che il *Mégnin*, afferma si riscontrano di regola nei feretri degli individui inumati di estate. Il fatto è davvero un po' strano poichè al momento della morte del Don D. B. si era in piena estate, ed in un'estate molto calda, quale fu quella del 1898, e noi non sapremmo darne una spiegazione esauriente. Forse bisogna considerare che il Don B. morì nel pieno della salute, verso le 8 del mattino, che il suo cadavere fu tosto portato in casa, e verosimilmente, come di solito si usa, in una stanza tenuta quasi all'oscuro. Non si verificarono quindi quelle circostanze che ordinariamente favoriscono la deposizione delle uova di *Curtonevra* e di *Calliphora* sui cadaveri degli individui morti in estate. Infatti si sa che questi ditteri accorrono numerosi nelle camere dei malati, quasi presentendo la possibilità di procurare adatto nutrimento alle loro uova, che spesso vengono deposte sulle narici e sulla bocca dei moribondi prima ancora che sia avvenuta la morte. Spirato l'infermo si aprono di solito largamente le finestre, mentre si pone in ordine la

stanza, e nuovi ditteri accorrono attratti da esalazioni percettibili forse soltanto dal loro olfatto finissimo. Nel caso del Don B. tutto questo non avvenne, perchè egli uscì sano di casa e vi fu ricondotto pochi minuti dopo cadavere; non si ebbe occasione di dare aria alla stanza, forse, come dicevo, la si mantenne all'oscuro, forse anche si coprì la faccia del cadavere con un fazzoletto. L'inumazione fu fatta a poco più di 24 ore dalla morte, cosa non trascurabile, poichè mentre non si intenderebbe mai come un cadavere abbandonato all'aria d'estate potesse sottrarsi alla deposizione delle uova di *Musca*, o di *Curtonevra* o di *Calliphora*, si può, fino ad un certo punto, capire come per un complesso di circostanze possa esserne andato immune il cadavere del Don B., che rimase tanto poco sopraterra.

In ogni modo qualunque possa essere la spiegazione, più o meno ingegnosa, più o meno accettabile, il fatto rimane, e mi sembra che lo si debba tener in conto poichè, in base a quello, qualora non fosse stata conosciuta la data della morte, si sarebbe stati condotti ad ammetterla avvenuta d'inverno, o almeno non nel colmo dell'estate.

Il secondo fatto importante, di cui diceva, è la constatazione di una specie del genere di *Ophyra* non menzionata dal *Mégnin*. Questi ha ritrovato sui cadaveri umani una specie di *Ophyra*, che si ravvicina per le dimensioni e per il colorito nero bleu brillante alla *Ophyra leucostoma*, ma che ne differisce per qualche particolarità, su cui non sto ad insistere. A questa specie il *Mégnin* assegnò il nome di *Ophyra cadaverina*.

La specie da noi riscontrata (*O. antrax Meigen*) non può essere confusa con queste due; essa è più piccola della *O. leucostoma* e della *O. cadaverina* ed oltre che per le dimensioni e per altri caratteri secondarj si distingue da queste due specie pel colore verde scuro brillante. L'*O. antrax* è forse meno comune delle altre, però è stata osservata sulla sostanza organica morta e lo *Schiner* [1] p. e. narra di averne visti innumerevoli esemplari attorno al cadavere di un cavallo.

---

[1] Op. cit.

Evidentemente le larve di questo dittero, che in generale vive in boschetti, sulle piccole piante ecc., attratte da esalazioni, che sfuggono al nostro olfatto, si sono insinuate nel terreno, che esse possono facilmente percorrere, in specie quando sia asciutto, come nel caso nostro, e sono penetrate attraverso le fessure della cassa, che, pur essendo ben conservata, poteva, come ci accertammo, lasciare adito in più punti al passaggio di una larva.

È da osservare poi che, mentre le specie di *Ophyra* segnalate dal *Mégnin* si trovano secondo il *Mégnin* stesso su cadaveri in via di decomposizione ammoniacale al periodo di fusione putrida, l'*Ophyra antrax* è stata da noi ritrovata su di un cadavere ben lontano da questi estremi.

Il terzo fatto notevole è l'assenza di quei coleotteri, che si riscontrano sui cadaveri mummificati all'aria libera; forse le loro larve non riescono ad insinuarsi attraverso il terreno fino dentro la cassa dei cadaveri inumati.

## III.

Si trattava di un caso sospetto, per noi accertato, di impiccamento omicida, che dette luogo ad un clamoroso dibattimento nella Corte di Assise di S.... finito colla assoluzione dell'imputato. Eseguimmo l'esumazione il 15 Nov. 1899 nel cimitero di P.... C.... situato in un terreno un po' umido sotto l'ombra fitta di castagni annosi. Il cadavere di G.... B...., un ragazzetto sui 14 anni, era inumato da 24 mesi e giorni in una cassa di castagno solida, ben conservata. Sul fondo della cassa e sul cadavere si trovava un detrito minuto quasi polverulento costituito da detriti di spoglie di ditteri sul quale si riconoscevano dei gusci di crisalidi vuote ancora intere, simili a quelle trovate sul cadavere del Don B. ed alcuni cadaveri di ditteri, identificati per *Ophyra antrax*. Non se ne rinvenne alcuno vivente, nè si riscontrarono altre specie.

Il cadavere era scheletrito al cranio, alle mani ed ai piedi, gli organi interni ridotti in una poltiglia, le grandi

masse muscolari sostituite da adipocera. Queste condizioni cadaveriche, non così rare quanto in generale si pensa pei cadaveri inumati, trovano soddisfaciente spiegazione nella ubicazione del cimitero, posto su di un altipiano, in luogo ombroso, un pò umido, riparato dai venti.

S'intende la mancanza di crisalidi e di insetti adulti della specie di *Curtonevra* ecc., essendo la morte avvenuta alla fine di Ottobre, quando, su quelle montagne dove il fatto avvenne, può dirsi essere incominciato l'inverno. S'intende come non si siano trovate viventi le *Ophyre*, essendo decorsi ormai due anni dalla morte ed essendo già da tempo la trasformazione cadaverica diretta in un senso, che non prepara ad esse adattato nutrimento. Un po' strano è il fatto di non aver trovato in mezzo a tanta ricchezza di masse adipoceree nessuna larva, o nessuna crisalide di *Pyophila*, di cui riscontrammo tanta abbondanza sui blocchi di adipocera del feto di L. Forse le larve di *Pyophila* non si insinuano tanto profondamente, forse la *Pyophila* dispone le sue uova soltanto direttamente su di un materiale, che offra loro un conveniente nutrimento.

Se noi ci facciamo adesso a riassumere in brevi parole quanto, di più essenziale, abbiamo riscontrato, dal punto di vista entomologico in questi tre casi, possiamo dire:

1.° Alle specie segnalate dal *Mégnin* dobbiamo aggiungerne due, probabilmente proprie alla fauna cadaverica italiana: l'*Ophyra antrax*, e l'*Eristalis tenax*. La prima è stata osservata nei cadaveri inumati, la seconda su di uno, che può considerarsi come esposto all'aria; quella una volta su di un cadavere mummificato, un'altra su di un cadavere trasformato in adipocera, questa su di un feto adipocereo.

2.° Sullo stesso cadavere (osservazione I) sono state riscontrate specie di ditteri (*Phora* e *Pyophila*) in ordine di sviluppo opposto a quello dato dal *Mégnin*, ed esprimenti gradi diversi di putrefazione che coesistevano nello stesso individuo; così che, qualora fossero mancati altri elementi di giudizio o le crisalidi di una di queste specie di ditteri (*Phora*) fossero

state più abbondanti, si sarebbe potuto fuorviare nello stabilire l'epoca della morte.

3.° In un cadavere inumato d'estate (Don D. B. di S. M.) si trovarono mancanti quelle specie di ditteri (*Musca*, *Calliphora*, *Curtonevra*) che appunto prediligono i cadaveri freschi, ed il fatto avrebbe potuto condurre in errore nella determinazione della data della morte, quando questa non fosse stata conosciuta.

4.° Le larve di *Pyophila petasionis*, abbondantissime in un cadavere, che può considerarsi come esposto all'aria (feto di L.), mancarono in uno inumato (G. B. di P. C.), pure essendo uguale la trasformazione in adipocera.

Così che, pur riconoscendo la grandissima utilità del criterio entomologico per la soluzione di certi quesiti, non si raccomanderà mai abbastanza al perito di esser cauto nella valutazione dei varii elementi di fatto prima di emettere, in base a questo criterio, un giudizio reciso, augurandoci che osservazioni numerose, integrate colla conoscenza più completa dell'andamento del processo putrefattivo e della biologia di certi insetti vengano a schiarire questo importante capitolo di Tanatologia forense.

Mi è grato esprimere i più vivi sentimenti di riconoscenza al mio illustre Maestro prof. A. Filippi, che gentilmente mi affidò lo studio peritale di questi casi, ed all'egregio prof. Senna del Laboratorio di Zoologia degli Invertebrati in Firenze, che mi fu largo di aiuto e di consigli nella determinazione dei ditteri studiati.

Dalla Clinica pediatrica di Firenze, diretta dal prof. G. Mya.

# SULLA DIGESTIONE DEL CASEINOGENO

## DI DONNA E DI MUCCA.

**DOTT. GIORGIO ROTONDI**

Assistente volontario.

Le differenze nella proporzione dei principali componenti del latte di donna e di mucca sono già abbastanza note da lungo. Non altrettanto può dirsi per le differenze relative alle sostanze proteiche dell'uno e dell'altro latte e per il differente loro modo di comportarsi di fronte al Lab ed agli altri fermenti digestivi. Ciò si spiega facilmente, ripensando alle controversie, non del tutto neppure oggi risolute, sulla natura, anche generica delle sostanze proteiche del latte.

*Duclaux* (1), fino a poco tempo addietro, riteneva che la unica sostanza proteica del latte fosse la caseina: questa non si sarebbe interamente precipitata coi metodi comunemente in uso ed i residui ancora disciolti sarebbero stati dai diversi autori scambiati per altre sostanze proteiche. Questa opinione oggidì non è più sostenibile. In seguito alle ricerche di *Hammarsten* (2), *Sebelien* (3), *Arthus* (4), *Hewlett* (5), *Halliburton* (6) ecc.,

(1) Duclaux, *Le lait*, 1894.
(2) Hammarsten, *Lehrbuch d. phys. Chemie.*
(3) Sebelien J. *The proteida of milk*, (Journ. of Phys., Vol. XII).
(4) Arthus M., *Substances albuminoides du lait*, (Arch. de Phys. n. et path., Vol. XXV, pag. 673).
(5) Hewlett R. T., *On lacto-globulin*, (Journ. of Physiology, Vol. XIII, pag. 798).
(6) Halliburton, in *Schäfer's Textbock of Physiology.*

noi dobbiamo ritenere che nel latte esistano almeno tre sostanze proteiche, aventi proprietà ben distinte: *caseinogeno*, *lattalbumina e lattiglobulina.*

*Wroblewski* (1) avrebbe anche trovato di recente un'altra sostanza proteica (scarsa nel latte di mucca, più abbondante in quello di donna e di cavalla) da lui denominata *opalisina.* Altre sostanze azotate, descritte da diversi autori, non vennero finora confermate.

A proposito delle differenti sostanze proteiche del latte, una prima importante distinzione fu fatta rilevare da *Hammarsten* (2) fra il latte di donna e quello di vacca. Nel primo cioè si trova molto più elevato il rapporto fra albumina e caseinogeno che nel secondo. La lattalbumina ed il caseinogeno si trovano in quantità pressochè uguale nel latte di donna, mentre nel latte di mucca il caseinogeno si trova in quantità ben sei volte maggiore della lattalbumina.

La più importante fra le sostanze proteiche del latte vien chiamata *caseinogeno* da *Halliburton*, il quale riserva il nome di *caseina* alla sostanza già trasformata dal Lab-enzima. *Hammarsten* adopera invece i termini di *caseina* e *paracaseina; Foster* quelli di *caseina* e *tireina; Roberts* di *caseina* e *metacaseina.* A scanso di equivoci la nomenclatura usata nelle seguenti pagine sarà quella di *Halliburton.*

Il caseinogeno viene generalmente classificato fra le *nucleoalbumine. Danilowski* (3) credette di dimostrare che il caseinogeno non fosse già una sostanza unica, ma bensì una miscela di due sostanze ben distinte, ch'egli chiamò *caseoalbumina* e *sostanze protalbiniche.* Le sostanze protalbiniche deriverebbero dalla caseoalbumina: quest'ultima si originerebbe nelle ghiandole mammarie direttamente dalla sieroalbumina del sangue. Il Lab-enzima poi non agirebbe che sulle sostanze protalbi-

(1) WROBLEWSKI A., *Ein neuer eiweissartiger Bestandtheil der Milch*, (Zeitsch. f. phys. Chem., Bd XXVI, pag. 308, 1898).

(2) HAMMARSTEN O., *Differenze fra il latte di donna e di vacca* (in svedese). (Riassunto in Maly's Jahresb., XXV, pag. 206, 1896).

(3) Riassunto estesamente da MME CATHERINE SCHEPILOFF, che ne accetta le vedute, nel *Dictionnaire de Physiol. del Richet*, alla voce *caséine.*

niche, trasformandole in caseoalbumina. Queste vedute del *Danilewski*, che riuscirebbero invero assai seducenti, dandoci ragione di fatti molto complessi relativi alla secrezione, alla caseificazione ed all'assorbimento del caseinogeno, vennero però confutate dal *Hammarsten* (1), il quale dimostrò, come questi diversi apprezzamenti dipendessero da un errore di tecnica e che le sostanze protalbiniche del *Danilewski* corrispondevano al caseinogeno, e la caseoalbumina alla lattalbumina degli altri autori.

Il caseinogeno di donna o di mucca presenterebbero fra loro alcune note e caratteristiche differenze, come: più difficile coagulabilità del caseinogeno di donna cogli acidi e col Lab, minore solubilità, diverso carattere dei fiocchi precipitati, ecc.

Queste differenze però fra il latte di donna e di mucca più che a diverse proprietà del caseinogeno, sono dovute al diverso grado di concentrazione di questo ed alla diversità del liquido in cui esso trovasi disciolto. Ben più importante sarebbe la differenza trovata da *Szontagh* (2) secondo il quale il caseinogeno di donna, sottoposto alla digestione cloridropeptica, non lascerebbe alcun residuo di pseudonucleina. Questo reperto, che tenderebbe a non far più classare il caseinogeno di donna fra le nucleoalbumine, fu subito confermato da *Wroblewski* (3).

Dalle ricerche di *Moraczewski* (4) e di *Salkowski* (5) risulta che non tutto il fosforo del caseinogeno si ritrova nella pseudonucleina. È però sempre vero che la pseudonucleina rappresenta il prodotto di scissione del caseinogeno più ricco di fo-

---

(1) Hammarsten O. *Zur Frage ob das Casein ein einheitlicher Stoff sei*, (Zeitsch. f. phys. Chem., Bd. VII, pag. 227).

(2) Szontagh F., *Neuere Beiträge zur Kenntniss der Albuminsubstanzen der Frauen-und Kuh-milch*, (Maly's Jahresb. XXIV, pag. 209, 1895).

(3) Wroblewski A., *Sulla caseina del latte di donna* (in polacco), riassunto in Maly's Jahresb., XXIV, pag. 211, 1895.

(4) Waclaw v. Moraczewski, *Verdauungsproducte des Caseins und ihr Phosphorgehalt*, (Zeitsch. f. phys. Chem. XX, pag. 29, 1894).

(5) E. Salkowski und Martin Hahn, *Ueber das Verhalten des Phosphors in Casein bei der Pepsinverdauung*, (Pflüger's Arch., Bd. LIX, pag. 225, 1894).

sforo. Ora dai reperti di *Szontagh* e *Wroblewski* si potrebbe forse perciò dedurre che il caseinogeno di donna sia meno ricco di fosforo che non quello di mucca? Ciò *a priori* parrebbe difficile ad accogliersi per considerazioni generali sul fosforo contenuto nel latte. I sali inorganici di P. sono molto più abbondanti nel latte di mucca: in quello di donna per contro predominano i composti organici del P. Ciò fu posto in evidenza dal *Siegfried* (1). Questo autore aveva precedentemente trovato del nucleone nel latte di mucca. Per suo suggerimento il *Wittmaack* (2), ripreso lo studio comparativo del nucleone nel latte di donna e di mucca, trovò che questa sostanza è molto più abbondante (circa il doppio) nel primo che nel secondo: di guisa che, dato anche il maggior quantitativo di P. inorganico nel secondo, il P. nucleonico rappresenterebbe circa il 6 % nel latte di vacca, circa il 41 % nel latte di donna del P. totale. Anche un altro composto organico molto fosforato, la lecitina, si trova, secondo *Stoklasa* (3), molto più abbondante nel latte di donna. Del resto, ritornando alle ricerche di *Szontagh* e *Wroblewski*, il loro reperto perdette, a mio avviso, molto d'importanza dopo gli studi, specialmente del *Salkowski*, sulla digestione cloridro-peptica del caseinogeno di mucca. Il *Salkowski* (4) osservò che anche il caseinogeno di mucca, dopo 24-48 ore, si discioglie interamente, senza lasciare un residuo di pseudonucleina, quando la quantità del liquido digestivo cloridro-peptico sia molto abbondante (500 volte il caseinogeno). Se il liquido digestivo è meno abbondante (solo 250 volte il caseinogeno) resta indisciolto l'1 % di pseudonucleina. Meno abbondante insomma è il liquido digestivo, più copioso è il residuo di pseudonucleina. In un altro più recente lavoro (5) lo stesso autore descrive la digestione peptica del ca-

(1) Siegfried M., *Zur Kenntniss des Phosphors in Frauen-und Kuhmilch*, (Zeitsch. f. phys. Chem., Bd. XXIII, pag. 575, 1896).

(2) Wittmaack O., *Ueber den Nucleongehalt der Kuh-, Frauen-und Ziegen-milch*, (Zeitsch, f. phys., Chem., Bd. XXII, pag. 567, 1896).

(3) Stoklasa J., *Zur Kenntniss des Phosphors in der Frauen-und Kuhmilch*, (Zeitsch. f. phys. Chem., Bd. XXIII, pag. 343, 1897).

(4) Salkowski E., *Ueber das verhalten des Caseïns zu Pepsinsalzsaure*, Pflüger's Arch., LXIII, pag. 401).

(5) Salkowski E., *Ueber das erste Product der Verdauung des Caseïns durch Pepsinsalzsäure*, (Zeitsch. f. phys. Chem., XXVII, pag. 297, 1899).

seinogeno' come caratterizzata dai primi tre seguenti stadi: 1° trasformazione del caseinogeno in albumosi; 2° scissione della pseudo-nucleina dalla albumosi; 3° successiva dissoluzione della pseudo-nucleina ed ulteriori trasformazioni delle albumosi. Ultimamente *E. Kobrak* (1) riprese lo studio del caseinogeno di donna. Egli avrebbe osservato che anche il caseinogeno di donna nella digestione cloridro-peptica lascia un residuo di pseudo-nucleina, meno abbondante però che il caseinogeno di mucca. Relativamente a questo reperto, è da osservarsi che il *Kobrak*, non tenendo conto delle precedenti ricerche del *Salkowski*, non dice, nella relazione delle sue esperienze, quale fosse il rapporto quantitativo fra caseinogeno e liquido digestivo. Relativamente poi all'altra conclusione alla quale arriva il *Kobrak*, che cioè il caseinogeno di donna sia una miscela di caseinogeno di mucca (nucleoalbumina) più un'altra sostanza proteica indeterminata, avrò occasione di ritornare in seguito, come pure sul metodo di preparazione del caseinogeno seguìto da questo autore. Ricordo ora solo incidentalmente come un altro autore, lo *Storch* (2), avesse già sostenuto che anche il caseinogeno di mucca fosse composto di due sostanze distinte, separabili con metodo speciale; in un'ulteriore comunicazione lo *Storch* (3) aveva poi descritta la più abbondante di queste sostanze come una nucleo-albumina, l'altra come un nucleo-proteide.

* * *

Ciò che fin qui esposi basta a dimostrare quanta incertezza ancora regni intorno alla intima struttura del caseinogeno, e, più specialmente, quanto dubbî sieno i caratteri differenziali fra il caseinogeno di donna e quello di mucca. L'ad-

(1) Kobrak E., *Beiträge zur Kenntniss der Caseïns der Frauen-milch*, (Pflüger's Arch., Bd. LXXX, pag. 69, 1900).

(2) Storch C., *Die Spaltung des Caseinogens der Kuhmilch durch Aussalzung*, (Centbl. f. Phys., Bd. XI, pag. 221, 1897).

(3) Storch C., *Beiträge zur Kenntniss der Eiweiskörper der Kuhmilch*, (Sitzungsber. d. Kers. Akad. d. Wiss., Mat. Nat. Class; CVIII, Abtheil III, pag. 325, riassunto in Central f. Phys., Bd. XIV, pag. 83, 1900).

dentrarsi nello studio della intima struttura del caseinogeno in genere e l'indagarne le possibili differenze specifiche, sarebbe troppo ardua impresa, forse anche prematura date le nostre sommarie cognizioni sulle sostanze proteiche, e, ad ogni modo, richiederebbe ben altri omeri per sobbarcarvisi. Parve invece a me che fosse per ora più conveniente, e, dal lato pratico, anche più interessante l'intraprendere uno studio comparativo sulla digestione di queste due sostanze.

Primo ci si affaccia il processo della caseificazione: la trasformazione cioè del caseinogeno in caseina per opera del Lab e dei sali di calcio. È universalmente nota la classica esperienza di *Hammarsten* (1); una soluzione di caseinogeno viene trasformata dal Lab, ma non coagulata; il coagulo avviene solo coll'aggiunta di sali di calcio. È merito di *Arthus* e *Pages* (2) l'aver dimostrato, che, non solo nelle soluzioni di caseinogeno, ma anche nel latte, il fenomeno si produce nelle identiche condizioni. Si adopera comunemente ed a torto la parola coagulazione per indicare tre fenomeni assolutamente distinti fra loro: *precipitazione*, *coagulazione* e *caseificazione*. Così, a cagione d'esempio, acidificando leggermente il latte si precipita il caseinogeno, il quale può infatti venir ridisciolto in un mezzo leggermente alcalinizzato. Acidificando e bollendo a lungo il latte, si *coagula* il caseinogeno, il quale non può più venir ridisciolto. La *caseificazione* è ancora qualche cosa di più, corrispondendo ad una più profonda trasformazione. *Arthus* e *Pages* (3) vollero dimostrare, che per l'azione del Lab, avveniva uno sdoppiamento del caseinogeno in due sostanze, delle quali l'una solubile sarebbe assorbita nello stomaco, l'altra formante coi sali di Ca, un prodotto insolubile, apparterebbe alla digestione pancreatica. Questa teoria, ritenuta probabile dai più reputati Chimici fisiologi, manca però ancora di una

---

(1) Hammarsten O., *Zur Kenntniss des Caseïns und der Wirkung des Labfermentes*, (Nova Acta R. Societ. Scien. Upsala, 1877).

(2) Arthus M. et Pages C., *Recherches sur la coagulation du lait et l'action du Lab.*, (Arch. de Phys. n. et path., XXII, 331, 1890)

(3) Arthus et Pages, *Sur le Labferment de la digestion du lait*, (Arch. de Phys. n. et path. XXII, pag. 540, 1890).

sicura conferma sperimentale. Qualunque però sia la natura del processo della caseificazione, (processo che tanti punti di contatto presenta colla coagulazione del sangue), siccome tanto il fermento peptico che il pancreatico esplicano la loro azione, nelle digestioni naturali, sulla caseina e non sul caseinogeno, così può a primo aspetto sembrare strano che tutti gli autori abbiano studiato la digestione artificiale della seconda e non della prima di queste due sostanze. Reputai perciò necessario, prima di ogni altra cosa, l'accertarmi se esistessero notevoli differenze nella digestione del caseinogeno e della caseina. Da alcune ricerche praticate all'uopo, sulle quali non mi trattengo per ora, avendo il proposito di occuparmi prossimamente per esteso della caseificazione, potei convincermi che la digestione peptica e la pancreatica della caseina e del caseinogeno si svolgono in modo molto simile. Mi ritenni perciò autorizzato ad eseguire le mie ricerche servendomi anch'io del caseinogeno.

Questo veniva da me preparato col metodo di *Hammarsten.*

Il latte, previamente diluito in tre volte il suo volume di acqua, veniva leggermente acidificato con acido acetico. Il precipitato, raccolto sopra un filtro, si ridiscioglieva in acqua alcanizzata con *NaOH.* La soluzione veniva filtrata od il caseinogeno veniva di nuovo precipitato con acido acetico. Ripetevo queste successive operazioni per diverse volte. Poscia dal prodotto, perfettamente essicato in un essicatore, estraevo con etere la piccola quantità di grasso rimasta. Il caseinogeno così preparato si scioglieva interamente in acqua alcalinizzata, anche diversi mesi dopo la sua preparazione. Aggiungendo del caglio ad una sua soluzione e lasciandola anche diverse ore in una stufa a 37°-40°, non si aveva nessun precipitato se prima non si aggiungeva qualche goccia di una soluzione di cloruro di calcio. Ciò stava a dimostrare che il caseinogeno da me preparato era libero anche di sali di calcio e poteva perciò considerarsi sufficientemente puro.

Adoperai lo stesso metodo di preparazione, sia per il latte di mucca che per il latte di donna. I due latti però si compor-

tano in un modo molto differente. Il latte di mucca, appena venga acidificato, forma subito un precipitato a grossi fiocchi, i quali possono facilmente venir raccolti sopra un filtro in un tempo relativamente breve. Il filtrato poi è quasi limpido e trasparente e non presenta che un leggero intorbidamento alla ebullizione. Per contro il latte di donna, quando viene acidificato, non presenta una precipitazione manifesta; appena si nota una maggiore opacità, data da finissimimi granuli in sospensione. La filtrazione avviene lentissimamente. Il filtrato è torbido ed opalescente, e sottoposto alla ebullizione, forma un abbondante coagulo. Ricorderò qui solo incidentalmente che il latte di asina ha, a questo riguardo, un modo di comportarsi intermedio fra quello di mucca e quello di donna, però molto più simile al secondo.

Preparai anche il caseinogeno di donna collo stesso metodo sopra descritto, quantunque esso metodo riuscisse poco comodo, per la difficile precipitazione, per il lungo tempo richiesto dalle filtrazioni e per la esigua quantità di sostanza raccolta. Ma ritenni indispensabile, perchè i resultati riuscissero fra loro confrontabili, di eseguire le ricerche comparative su materiale sempre preparato con identico metodo. Noi infatti non possiamo essere sicuri di avere sempre la stessa sostanza, preparando il caseinogeno con metodi differenti. Il *Kobrak* [1] nelle sue ricerche preparava il caseinogeno di donna con un metodo speciale. Al latte, già liberato della maggiore parte del grasso colla centrifugazione, aggiungeva il quinto del suo volume di una soluzione $\frac{N}{10}$ di acido acetico. Poneva il tutto in un cartoccio di pergamena, immerso in acqua di cloroformio e lo lasciava per 5 giorni, cambiando giornalmente l'acqua di cloroformio. Il contenuto del cartoccio si decantava e la parte solida veniva ulteriormente trattata con alcool ed etere per liberarla completamente dal grasso. Ma con questo metodo si raccoglieva non solo il caseinogeno, ma anche gran parte se non tutta la lattalbumina. Si spiegano perciò anche

[1] Kobrak E., Lavoro citato.

i diversi resultati ottenuti da questo autore, non che la conclusione alla quale egli arriva, che cioè il caseinogeno di donna sia una miscela di caseinogeno di mucca più un'altra sostanza proteica.

*
* *

*Digestione cloridro-peptica.* — Mi valsi come liquido digestivo d'acqua contenente il 2 ‰ di HCL alla quale aggiungevo della pepsina di *Merk* in quantità piuttosto abbondante. Il potere digerente del liquido veniva saggiato sopra della fibrina di sangue. Nelle prime ricerche tenni molto elevato il rapporto fra liquido digerente e sostanze da digerirsi. A questo proposito è da osservarsi che, quanto più elevato è questo rapporto, tanto più ci avviciniamo alle condizioni di una digestione naturale. *Sheridan Lea* [1], per rendere il più possibilmente simile il processo digestivo artificiale al naturale, ideò diversi ingegnosi accorgimenti, intesi specialmente a combattere l'accumularsi dei prodotti digestivi, i quali, com'è noto, esercitano un'azione inibitrice sulla digestione. È chiaro però che a questo inconveniente si ovvia in gran parte anche adoperando un liquido digestivo molto abbondante, nel quale quindi i prodotti digestivi, man mano che si formano, vengono a trovarsi molto diluiti.

In 3 piccoli *Erlenmeyer* contenenti 25 cc. di liquido cloridro-peptico ponevo 5 cg. rispettivamente di caseinogeno di mucca, di caseinogeno di donna e di fibrina. Tanto il caseinogeno che la fibrina erano secchi. Lasciavo gli *Erlenmeyer* in una stufa a 37°-40°, e, dopo un certo tempo, incominciavo a saggiare il liquido colla reazione del biurete: più tardi osservavo quando tutta la sostanza veniva disciolta. In queste condizioni, essendo cioè la quantità del liquido cloridro-peptico uguale a 500 volte la quantità della sostanza da digerirsi, si osservavano i seguenti fatti.

---

[1] A. Sheridan Lea, *Artificial and natural digestions*, (Journ. of Phys. XI, pag. 226, 1890).

Già dopo un'ora la fibrina si presentava molto rigonfia, mentre non si osservava alcun cambiamento nel caseinogeno, sia di donna sia di mucca. La reazione del biurete incominciava a comparire dopo un paio d'ore e generalmente era ben netta dopo 3-4 ore nel liquido contenente fibrina. Nei liquidi invece contenenti caseinogeno, sia di donna che di mucca, la reazione del biurete incominciava a comparire soltanto molto più tardi (in media dopo 4 ore) e non era ben netta che dopo almeno 6 ore. Dopo 7-8 ore la reazione del biurete era ugualmente netta nei tre liquidi.

La fibrina era sempre interamente disciolta dopo un tempo variante dalle 9 alle 12 ore. Il caseinogeno invece impiegava sempre un tempo almeno doppio prima d'essere interamente disciolto. Dopo 24 ore infatti si osservava sempre un residuo indisciolto, il quale non scompariva affatto se non dopo 30-36 e qualche volta anche 58 ore. Queste differenze erano in rapporto colla diversa attività del liquido cloridropeptico, nel quale era costante solo le percentuale di HCL, ma non quella della pepsina. È però da osservarsi che sempre, nelle singole esperienze, se si ebbero differenze così rilevanti nella rapidità di digestione del caseinogeno e della fibrina non si ottennero invece differenze apprezzabili fra il caseinogeno di mucca e quello di donna.

Provai anche a diminuire il rapporto fra liquido digestivo e sostanza. In tal caso compariva più presto la reazione del biurete, ma la sostanza impiegava un tempo anche relativamente più lungo per disciogliersi. Quando il rapporto fra liquido e caseinogeno era di 300 ad 1, restava sempre un residuo indisciolto, anche dopo 48 ore. Questo residuo era sempre maggiore quanto più basso era il rapporto. In tutti i casi però la quantità di residuo indisciolto era uguale tanto per il caseinogeno di donna che per quello di mucca. La fibrina invece veniva completamente disciolta dopo 30 ore, anche quando il rapporto fra liquido digestivo e fibrina era solo di 80 ad 1.

Riassumendo dunque le osservazioni fatte sulla digestione cloridro-peptica, si può conchiudere: 1° che la fibrina è molto più rapidamente digeribile che il caseinogeno, 2° che il casei-

nogeno di donna e di mucca non presentano fra loro nel primo stadio digestivo alcuna apprezzabile differenza.

* * *

*Digestione pancreatica.* — La digestione pancreatica venne studiata solo per il caseinogeno di mucca. Il *Biffi* (1), il cui lavoro, fatto nel laboratorio del *Salkowski*, è il più recente e completo studio in proposito, osservò che la digestione pancreatica del caseinogeno di mucca si compie in modo analogo alla fibrina. Le albumosi cioè hanno gli stessi caratteri: il caseinantipeptone ha le proprietà, le reazioni e la composizione elementare del fibrinantipeptone; anche i prodotti in cui si decompone l'emipeptone (leucina, tirosina, ecc.) sarebbero qualitativamente e quantitativamente uguali per il caseinogeno e la fibrina. Non mi consta che la digestione pancreatica del caseinogeno di donna sia già stata studiata.

Nelle mie ricerche, non avendo a mia disposizione quantità molto rilevanti di caseinogeno di donna, non potei occuparmi dei prodotti ultimi della digestione. Ciò, del resto, non avrebbe avuto molta importanza. Ho già infatti accennato incidentalmente alle differenze fra digestioni artificiali e naturali. Ora queste differenze, poco notevoli sul principio, vanno naturalmente sempre più accentuandosi negli ulteriori stadii del processo digestivo. Quale importanza pratica, per esempio, avrebbe avuto il determinare la quantità di leucina o tirosina formatasi dopo 38-60 ore di una digestione in vitro, mentre alcuni autori ancora sostengono che queste sostanze non si formano neppure nella digestione pancreatica naturale? A ciò si aggiunga, che, secondo le più recenti vedute (2), le proteine solubili possono venir assorbite e direttamente utilizzate dall'organismo senza neppure venir trasformate in peptoni.

Per ciò, il campo già necessariamente modesto delle mie

---

(1) U. Biffi, *Zur Kenntniss der Spaltungsproducte des Caseïns bei der Pancreasverdauung*, (Virchow's Archiv., CLII, I, pag. 180).

(2) Vedi Luciani, *Fisiologia dell'uomo*, (capitolo XIX, Le secrezioni interne restauratrici).

ricerche si limitò alla determinazione del tempo necessario per la dissoluzione e per la prima trasformazione del caseinogeno.

Preparai dapprima un estratto glicerico di pancreas di vitello. Come liquido digestivo adoperavo una miscela di estratto glicerico ed acqua a parti uguali, il tutto alcalinizzato con carbonato sodico nella proporzione del 4 per mille. Una piccola quantità di timolo aggiunta era sufficiente per impedire la putrefazione anche dopo 3 o 4 giorni.

Nella massima parte delle ricerche tenni molto elevato il rapporto fra liquido digestivo e sostanza. Praticai sempre le esperienze contemporaneamente e nelle identiche condizioni su della fibrina e su del casinogeno di donna e di mucca. Non potei servirmi della reazione del biurete come criterio della rapidità della digestione, poichè l'estratto glicerico presentava già di per sè questa reazione, la quale, a digestione inoltrata, si faceva solo più intensa.

Quando il liquido digestivo era 500 volte più abbondante della sostanza da digerirsi, osservai che il caseinogeno sia di donna che di mucca era interamente disciolto dopo 4-5 ore. Per poter poi giudicare se il caseinogeno, oltre che disciolto veniva anche trasformato, acidificavo debolmente con acido acetico diluito dei campioni presi successivamente dal liquido digerente, onde vedere se vi si trovasse disciolto del caseinogeno, non ancora modificato e perciò precipitabile. Potei così convincermi che il caseinogeno, man mano che veniva disciolto, era anche rapidamente trasformato. Fintanto infatti che si trovava del caseinogeno indisciolto nel liquido digerente, questo presentava un intorbidamento coll'acido acetico. Invece, una mezz'ora al più tardi dopo che tutto il caseinogeno era stato disciolto, non si osservava più alcun intorbidamento coll'acido acetico.

Nelle identiche condizioni la fibrina veniva interamente disciolta molto tempo più tardi del caseinogeno: solo cioè dopo 9-10 ore. Il liquido pancreatico si trovava così dotato verso la fibrina all'incirca dello stesso potere digerente del liquido cloridro-peptico precedentemente adoperato.

Anche abbassando il rapporto fra liquido digestivo e caseinogeno, osservai che questo veniva interamente disciolto, contrariamente a quanto avviene nella digestione cloridro-peptica. Dopo una ventina di ore di digestione non restava alcun residuo di caseinogeno, anche quando il rapporto fra liquido digestivo e sostanza era solo di 100 ad 1.

Nelle stesse condizioni la fibrina non veniva interamente disciolta se non dopo più di 30 ore.

Volendo ora riassumere brevemente le ricerche eseguite sulla digestione pancreatica, possiamo conchiudere:

1) che il caseinogeno è più rapidamente digeribile della fibrina;

2) che tanto il caseinogeno di mucca che quello di donna vengono disciolti e subiscono la prima trasformazione in albumosi, senza presentare fra di loro alcuna apprezzabile differenza.

*
* *

Un primo fatto che risulta dalle mie ricerche e che mi pare interessante il far rilevare, è la molto maggiore digeribilità del caseinogeno nella digestione pancreatica che in quella cloridro-peptica. Prendendo infatti come digestione di confronto quella della fibrina, si osservò sempre che, mentre nelle digestioni peptiche il caseinogene veniva digerito molto più lentamente della fibrina, l'opposto avveniva nelle digestioni pancreatiche. Questa osservazione porta un contributo in appoggio alla teoria, secondo la quale la caseina verrebbe digerita nell'intestino e non nello stomaco.

È nota la tendenza dei fisiologi (1) a dar sempre minore importanza, anche nell'adulto, alla funzione digerente del succo gastrico di fronte alla sua azione antiputrida, scoperta già da tanto tempo dallo *Spallanzani*. Nella digestione del caseinogeno lo stomaco avrebbe un'importanza anche minore. Ho già accennato alla opinione di *Arthus* e *Pages*, secondo i quali l'unico atto digestivo che si compie nello stomaco

(1) Bunge, *Chimica fisiologica*.

sarebbe la caseificazione. Ai fatti d'indole chimica messi in evidenza da questi ed altri autori per sostenere tale opinione, si potrebbero aggiungere anche altre considerazioni.

Lo stomaco del neonato e del lattante per la sua piccola capacità, per il tardivo sviluppo delle sue pareti, sia nella parte muscolare che mucosa, e, più che tutto, per la sua posizione quasi verticale, pare poco adatto, per la sua stessa conformazione anatomica, a rappresentare una parte importante nella digestione. Il pancreas invece si trova già abbastanza sviluppato; il suo secreto poi, se nei primi mesi è dotato di uno scarso potere saccarificante, contiene invece della tripsina fino dalla nascita. Alcuni autori citati dal *Marfan* (1) avrebbero trovato del peptone nel contenuto gastrico poco dopo il pasto. Questo reperto riesce veramente strano, sapendosi che i peptoni vengono immediatamente assorbiti appena formati, di guisa che riesce difficile il rintracciarli anche nel contenuto gastrico degli adulti. Ma del resto, anche se questo reperto fosse esatto, le piccole quantità di peptone trovate potrebbero provenire dalla lattalbumina e non dal caseinogeno. Un'altra argomentazione per sostenere la scarsa importanza del succo gastrico nella digestione peptica del caseinogeno, ci può venir data dal fatto scoperto dal *Roberts* e poi più minutamente studiato da altri fisiologi inglesi (*Edkins*, *Brodie*, *Halliburton*), che cioè anche il succo pancreatico è dotato di un'azione caseificante. Questo fatto, al quale finora venne data troppo scarsa importanza, ci lascerebbe quasi supporre che nello stomaco non solo non abbia luogo la peptonizzazione della caseina, ma che non si completi neppure la caseificazione.

Ciò non per tanto, finchè specialmente non ci sia ben noto lo scopo funzionale della caseificazione, non si può certamente escludere in modo assoluto che abbia luogo la digestione peptica della caseina. Dalle mie ricerche personali mi credo solo autorizzato a conchiudere che questa ha un'importanza molto minore della digestione pancreatica.

---

(1) MARFAN, *Traité de l'allaitement*, capitolo VI, *La digestion du lait chez le nourrisson*.

*
* *

I risultati da me ottenuti nella digestione cloridropeptica tolgono valore alla più importante fra le differenze ch' erano state rilevate fra il caseinogeno di mucca e quello di donna.

Ho già infatti ricordato le ricerche di *Szontagh* e *Wroblewski*, secondo i quali il caseinogeno di donna si distinguerebbe da quello di mucca per il fatto di non lasciare, nella digestione cloridropeptica, alcun residuo di pseudonucleina. Ma, dopo che il *Salkowski* ebbe dimostrato che anche la digestione del caseinogeno di mucca poteva, in determinate condizioni, compiersi essa pure senza residuo di pseudonucleina, mi parve fosse necessario ripetere le ricerche di confronto, facendo in modo che le condizioni fossero identiche, così per il metodo di preparazione del caseinogeno, come per le proprietà del liquido digestivo e per il rapporto fra questo e la sostanza da digerirsi. I miei risultati non sono in diretta contraddizione con quelli di *Szontagh* e *Wroblewski*. Io osservai solo che, date quelle condizioni nelle quali tutto il caseinogeno di donna veniva disciolto senza lasciar alcun residuo, lo stesso, nelle identiche circostanze, avveniva anche per il caseinogeno di mucca. L' aver inoltre osservato che nei primi stadi della digestione sia peptica che pancreatica il caseinogeno di mucca e quello di donna si comportano nello stesso modo, non è certo argomento sufficiente a dimostrare la identità dei due caseinogeni. Se per altro si riflette alla poca importanza anche degli altri caratteri differenziali che furono descritti fra i due caseinogeni, tale identità ci parrà almeno probabile. Ad ogni modo però la differente digeribilità del latte di donna e di quello di mucca non è certo dovuta ad una differente digeribilità del caseinogeno in essi contenuto. Le differenze che si osservano nella digestione naturale del latte fra il caseinogeno di donna e quello di mucca sono molto probabilmente dovute soltanto al diverso grado di concentrazione del caseinogeno ed alla diversità del liquido in cui esso si trova disciolto. Non è sulle molto discutibili differenze fra i due caseinogeni che noi dob-

biamo basare una distinzione fra il latte di donna e quello di mucca. Altri e ben più importanti caratteri ci permettono di distinguere questi due latti fra loro, come pure dal latte di differenti animali. Allo stato attuale delle nostre cognizioni noi dobbiamo dare la massima importanza non solo alla diversa proporzione dei principali componenti del latte, ma anche più specialmente alla diversa forma sotto cui il fosforo si trova combinato ed al diverso rapporto fra il caseinogeno e le altre sostanze proteiche.

Giunto così al termine di queste pagine, sento il dovere di esprimere la mia gratitudine ai professori *Fano* e *Mya*, che furono con me tanto prodighi di consigli e di ospitalità, nonchè al dott *Vittorio Bosi*, che mi permise gentilmente di procurarmi il latte di donna all' Ospedale degli Innocenti da lui diretto.

Istituto di Medicina legale dell'Università di Modena.

**PROF. L. BORRI**
Direttore.

# CONTRIBUTO
ALLA
# CONOSCENZA DEL PROCESSO DI SAPONIFICAZIONE DEI CADAVERI.

La interpretazione della presenza di derivati dai grassi nei tessuti del cadavere, in quantità più o meno notevoli, ed in sedi anormali rispetto a quelle che nell'individuo vivente servono di deposito di cosiffatti alimenti di riserva, ha risentito la influenza delle dottrine che si sono contrastate il terreno, fino ad ieri si può dire, nel campo della patologia per ciò che concerne la origine del grasso nei processi degenerativi; in ordine ai quali la discussione mirava a decidere se il grasso endocellulare provenisse da fatti di infiltrazione, ovvero se potesse originarsi in sito dalla albumina, mercè una metamorfosi parziale del protoplasma vivente. In oggi, del pari che i fisiologi, sembra, abbiano risoluto in senso affermativo il problema della possibilità che dalle proteine si formino dei grassi, i patologi ritengono fuori di dubbio che il grasso nei processi degenerativi sia un prodotto di trasformazione delle proteine cellulari. A lato delle prove dimostrative dirette di questa metamorfosi fornite specialmente da *Pettenkofer* e *Voit*, da *Hoffmann* e da *Burdach*, alle quali possono aggiungersi anche quelle risultanti dalle ricerche citologiche recentissime del *Carini* (1), i patologi hanno avanzato anche, come prova indiretta,

(1) *Contributo allo studio della metamorfosi grassosa.* (Lo Sperimentale, anno LV, fasc. 1°, 1901). — [Cfr. ivi per la bibliografia sull'argomento].

il fatto della formazione di saponi ammoniacali e calcarei (*adipocera*) verificabile a spese dei materiali proteici di organi morti, la quale starebbe ad indicare come dalla scomposizione dell'albumina, in certe speciali condizioni, possano originarsi degli acidi grassi superiori, appunto come avviene nell'organismo vivente; a differenza di quello che accade nella putrefazione ordinaria delle albumine, la quale non produce altro che gli acidi grassi inferiori, butirrico, valerianico e capronico (*Carbone* [1]). Queste speciali condizioni sarebbero costituite dalla permanenza sott'acqua di certi tessuti (muscoli) e — secondo il *Naegeli* [2] — dall'azione di scomposizioni batteriche speciali.

Se non che questa dottrina che vedeva l'origine della adipocera in una trasformazione delle sostanze albuminoidee del cadavere, per quanto avanzata dal *Virchow* e sostenuta dall'autorità del suo nome, non ha regnato incontroversa nella Scienza; nonostante che — come ha notato l'*Erman* — fino da molto tempo prima, si fosse sostenuta un'analoga opinione, per esempio, dal *Furcroy* (1787) il quale sosteneva esplicitamente che in certi ambienti le parti molli, e segnatamente i muscoli del cadavere, si cambiassero in grasso, invece di cadere in preda alla putrefazione colliquativa, e successivamente tale grasso si saponificasse; e nonostante che di questo avvenimento fosse stata tentata la dimostrazione sperimentale dal *Gibbes*, fino dal 1794, in un lavoro pubblicato nelle *Philosophical Transactions*, dal titolo *Sulla trasformazione dei muscoli animali in una sostanza simile allo spermaceti.* Anzi si può dire che il concetto della metamorfosi grassosa postmortale delle parti molli del cadavere abbia trovato delle recise opposizioni, ad eccezione del *Kratter*, del *Voit*, dello *Schauestein*, per parte della grande maggioranza degli osservatori (cfr. Bibliografia) che dipoi si occuparono dell'argomento; alle conclusioni dei quali conferì attendibilità anche maggiore la circostanza dell'essere di piena concordanza con le vedute di *E. Hofmann.* Del resto,

---

(1) *Giornale dell' Accademia di medicina di Torino*, anno LIX, n° 5.
(2) *Sitzungsber. der Münch. Akad.*, 1879, p. 287.

anche le indagini sperimentali istituite nell'intento di cimentare la trasformabilità degli albuminoidi dei tessuti morti in grasso, facendo dei tentativi per la produzione artificiale della adipocera, non ebbero risultato probativo, perchè discordi; così, mentre il *Kratter* afferma di aver ottenuto con facilità dell' adipocera dal tessuto muscolare tenuto prolungatamente sott'acqua, il *Tamassia* sarebbe giunto a delle risultanze opposte; e così, per via clinica, mentre il *Voit*, in concordanza di risultati con il *Bergeat*, avrebbe riscontrato un notevole aumento percentuale dei grassi ottenibili da una massa muscolare mantenuta sotto l'acqua corrente o nell'acqua di calce, il *Gauthier* ed il *Landi* (1), nelle loro ricerche sulla carne conservata, osservarono come da essa non si producessero dei corpi grassi o, semmai, ciò avvenisse in proporzione assolutamente trascurabile. Peraltro, siccome, nonostante la differenza del risultato, gli esperimenti di *Voit* e *Bergeat* da un lato, e quelli di *Gauthier* e *Landi* dall' altro, hanno una parte a comune, vale a dire la condizione di *asetticità* del *medium*, se ne deve dedurre che non possa, eventualmente, essere l' azione di speciali batteri (come opinava il *Naegeli* e di recente ammetteva lo *Sieradzki*, ritenendo per altro, a differenza di lui, che i saprogeni inducessero la saponificazione dei grassi) l'efficiente della trasformazione postmortale dell'albumina in grasso; onde, piuttosto, scartato questo ipotetico momento causale, la differenza di quei risultati sarebbe interpretabile con il riferimento alle peculiari condizioni fisiche dell' ambiente; inquantochè nelle ricerche del *Voit* e *Bergeat* la carne muscolare veniva conservata entro o sotto un liquido, mentre gli esperimenti del *Gauthier* e *Landi* furono compiuti tenendo il tessuto muscolare sospeso nel vuoto in uno speciale apparecchio. Questa circostanza differenziale si presenterebbe, anche a prima vista, di un certo tal quale valore pel fatto che l' aver ottenuto del grasso di nuova formazione dal tessuto muscolare mantenuto sotto l' acqua collimerebbe con quanto l' osservazione empirica ha rilevato da tempo, cioè che la sa-

(1) *Sulle intime funzioni dei tessuti ed in particolare sulla vita del muscolo separato dall' essere vivente.* (Archivio per le scienze mediche, Vol. XVII, fasc. 2°).

ponificazione ha luogo in quei cadaveri che stanno vario tempo sott' acqua od in un ambiente, più che saturo, carico di umidità. E a chi poi obiettasse che nell'esperimento del *Kraus*[1] la sostanza muscolare fu mantenuta sott'acqua ed asetticamente, in modo da realizzare anche la condizione che giusta l'osservazione empirica favorirebbe la saponificazione, si può rispondere col *Voit* che l'esperimento durò troppo poco tempo per essere, nella sua negativa, dimostrativo.

In questo stato di cose, mi sembrò opportuno di riprendere — completandole — le indagini del *Voit;* ed, a tale effetto, il dì 13 gennaio del 1897, nell'occasione di eseguire la necroscopia di un robusto giovane spento da morte violenta, ne dissecai accuratamente uno dei bicipiti brachiali, denudandolo dall'aponeurosi e privandolo completamente dalle appendici tendinee ed immergendolo successivamente in un vaso a tappo smerigliato, della capacità di un litro, pieno, per due terzi, di comune latte di calce. Il muscolo, così preparato, era del peso di gr. 112. Il vaso, chiuso con la semplice apposizione del tappo, fu poi tenuto alla temperatura dell'ambiente.

Per qualche mese, non si resero apprezzabili dei cambiamenti di qualche importanza nella massa muscolare che era immersa nel liquido opalescente e riposava sul deposito calcareo dello spessore di circa 3 centimetri, formatosi al fondo del vaso. Il colorito della sostanza muscolare perse però quasi subito la sua tonalità cromatica caratteristica, assumendo una tinta più smorta e slavata, evidentemente per effetto e di una tenue stratificazione calcarea e di un'azione chimica superficiale. In quanto poi agli eventuali fatti indicativi la riduzione della massa muscolare, è a dirsi come essi fossero molto lenti a manifestarsi ed a progredire; tanto che, fino agli ultimi del giugno 1900, cioè quasi tre anni e mezzo dopo la sommersione del muscolo, ne persisteva una massa valutabile approssimativamente alla metà di quella apprezzabile all'inizio dell'esperimento. Qualche mese dopo, ritornando in Modena al termine delle ferie estive, trovai, peraltro, completamente

(1) *Arch. für experimentelle Pathologie*, Bd. XXII, p. 174.

disgregata l'unità dell'organo muscolare; ed, agitando il vaso, la densa poltiglia raccolta nel suo fondo appariva di un colorito roseo poco carico, quasi carnicino; e, per di più, pareva che nella sua massa, per gran parte omogenea, si trovassero commisti dei frammentuoli che, dal loro aspetto, appariva fossero dei minimi residui di sostanza muscolare. Il liquido di sospensione, lasciato in riposo, si mostrava lievemente opalescente e di aspetto come oleoso; e sull'orlo del vaso, in grazia di un trapelamento avvenuto per l'interstizio tra la bocca ed il tappo, si trovava un tenue induito di una materia untuosa, appiccicaticcia ed inodora.

Per un insieme di circostanze, non potei sottoporre ad indagini particolareggiate il contenuto del vaso altro che nel mese di maggio del 1901; noto, peraltro, che, nel frattempo, nessuna altra modificazione, grossolanamente apprezzabile, intervenne nel materiale che era in osservazione.

Aperto con molta precauzione il vaso, tentai di ricavare dal suo contenuto delle culture in tubi di brodo ed in piastre di gelatina; ma, sì gli uni che le altre, rimasero perfettamente sterili; e questa sterilità fu confermata dagli esami microscopici eseguiti diffusamente in seguito, quando potei maneggiare a piacimento il materiale in esame: ciò basta a destituire d'ogni valore la possibile obiezione di un anaerobismo che si potesse muovere alla sterilità delle culture. Del resto, se questi esami erano quasi un di più, perchè se, attese le condizioni del *medium* (latte di calce), la mancanza di vita microfitica, in atto o pregressa, era senz'altro intuitivamente presumibile, ciò assodava fin d'allora il fatto che, qualora le ulteriori risultanze dell'esperimento fossero per dimostrare la metamorfosi in grasso delle sostanze proteiche muscolari, questa trasformazione, contrariamente a quanto taluno aveva ritenuto probabile, avrebbe avuto luogo *all'infuori di ogni e qualunque influenza decompositrice (riduttrice?) di microrganismi.*

L'odore che si sprigionò dal vaso era sgradevole; però, se somigliava al tanfo del rancido, non ricordava affatto le emanazioni nauseabonde putrefattive. Vuotato il contenuto del vaso in un'ampia bacinella, la superficie del liquido, nel tempo

che questo versavasi, si copriva di bolle gassose che, evidentemente, provenivano da un imprigionamento di aria trascinata ed invischiata dal liquido cadente e nient'affatto derivavano da sviluppo endogeno di gas nella massa diffluente.

Dalla poltiglia, per quanto mi studiassi, eseguendo anche dei ripetuti lavaggi, non potei raccogliere altro che qualche piccolissimo lacerto di sostanza che conservava una certa tal quale apparenza di tessuto muscolare; e fu su questi frustuli, che successivamente furono eseguiti gli esami microscopici. Notevole fu intanto il fatto che, sulla superficie libera dell' acqua di primo e secondo lavaggio lasciata durante un' intera notte nella rispettiva bacinella, trovai, al mattino successivo, una stratificazione solida, dello spessore di un mezzo millimetro circa, formata da una materia bianca assai densa e concresciuta. facilmente removibile ed accumulabile sulla spatola: tale induito aveva completamente l' aspetto di un sottile strato di acido stearico, identico a quello che può assumere della stearina fusa lasciata cadere sull'acqua.

Tutte le acque di lavaggio furono accuratamente riunite al liquido nel quale era stata in digestione la sostanza muscolare, che fu messo in disparte per l' esame chimico. Le perdite, eventualmente subite durante tutte queste manipolazioni, furono minime ed addirittura trascurabili.

Indagini chimiche [1]. — *A) parte liquida.* — Questa, dopo averne eliminato l' idrato di calcio libero, trattata con 5 volumi di alcool a 90°, dette un precipitato fioccoso, in apparenza abbondante, ma che, raccolto sopra filtro, lavato ed essiccato alla stufa, si ridusse a pochi centigrammi. In esso fu riscontrata la presenza del calcio e, dopo distruzione della materia organica, anche del fosforo. Probabilmente si trattava di acido fosfo-glicerico. Dalla distillazione dell'alcool rimase un residuo acquoso il quale conteneva della calce combinata con acidi organici inferiori della serie grassa, ma in quantità troppo piccola per essere caratterizzati ed identificati.

---

[1] Queste ricerche furono compiute nel laboratorio di Chimica farmaceutica dell'Università di Modena.

*B) Parte solida.* — In questa, costituita per massima parte da idrato di calcio, si riscontrarono acidi grassi superiori combinati con la calce stessa in quantità notevole; anzi, con un dosamento, ne fu determinato il peso in grammi 2,256. Riferendo questo valore assoluto ad un titolo percentuale (muscolo in esame gr. 112), esso rappresenterebbe il 2,14 % di acidi grassi che provenivano dalla sostanza muscolare tenuta in esperimento. Ora è noto che l'analisi dei muscoli normali ha dato, in media, il resultato seguente: acqua 76,7 %; parti solide esenti da grasso 23,3 %; grasso 0,9 %. Soltanto nei muscoli degenerati furono trovate (*Hösslin*) delle percentuali di 1,5 e fino di 2,5: onde nel muscolo tenuto in esperimento, che si trovava in eccellenti condizioni di nutrizione, dovremmo ascrivere alla trasformazione regressiva della molecola albuminoide una neoformazione di grassi nella proporzione dell'1,24 %. Resultato veramente notevole il quale, non solo collima, ma sibbene supera quelli del *Voit* e del *Bergeat*.

Il secondo dei quali, nei suoi esperimenti compiuti tenendo il muscolo sotto la semplice acqua corrente, trovò, per gr. 42,5 di carne muscolare gr. 0,139 di grasso di nuova formazione (0,327 %): per gr. 157,5 id. id., grasso 0,082 id. id. (0,052 %). Ora, a questi resultati deve farsi la critica di una grande inesattezza di esperimento; perchè, stando il muscolo sotto l'acqua corrente, sui residui mal si potevano trovare dei valori esattamente proporzionali al *quantum* di materia primitivamente messa in esame. Più corretto, certo, fu il metodo seguito dal *Voit*, sul quale è modellato pure il procedimento da me seguito: egli, su gr. 225,3 di muscolo tenuto per 12 mesi sommerso nel latte di calce, ebbe una quantità di grasso neoformato di gr. 0,861, (0,382 %), resultato, questo, che si ravvicina molto più al 1° del *Bergeat* di quello che non al mio. Tale differenza può trovar la spiegazione in due ordini di fatti, e cioè: 1° che il *Voit* calcolò la quantità del grasso neoformato facendo la determinazione diretta comparativa del grasso preesistente su di un identico peso della stessa sostanza muscolare, mentre io mi son riferito, nel paragone, alle quote percentuali medie conosciute di contenuto normale di grasso nei muscoli in buone

condizioni di nutrizione; 2° che il *Voit* fece le sue ricerche definitive forse troppo precocemente, vale a dire a capo di 12 mesi dall'inizio dell'esperimento su di una quantità di sostanza doppia di quella da me messa in esame, mentre io la esaminai dopo un tempo notevolmente maggiore (quadruplo); e si osservi che, mentre il *Voit* dice di aver trovato disciolto completamente nel latte di calce un pezzo di muscolo del peso di gr. 225,3 dopo soli 12 mesi, io, dopo tre anni e mezzo, vidi come, del muscolo messo in osservazione, permanesse tuttora una massa valutabile alla metà circa di quella iniziale. Comunque, quello che resta nuovamente assodato dalla prova chimica si è che, *in determinate circostanze, dalle sostanze albuminoidi morte si può formare del grasso.*

Indagine microchimica. — I minimi frammenti ricuperabili dalla poltiglia del vaso, nei quali si poteva intravedere come un qualche residuo della sostanza organica distrutta, lavati in acqua e dissociati, furono esaminati: a) *senza colorazione;* ed in questo caso si presentò una massa d'aspetto omogeneo, di colore giallastro, con delle zone di maggior rifrangenza, massa nella quale non si poteva scorgere il benchè minimo accenno di struttura: b) *con le colorazioni;* ed in questo caso, pur adoperando i più svariati processi, non si ottennero nè impregnazioni, nè vere colorazioni, sia adoperando colori organici, sia servendosi dei più diversi colori anilinici. In nessuno caso i preparati tennero il colore; ed anche il roseo diffuso dell'eosina, dopo breve tempo si dileguò: tutto ciò autorizzava la conclusione, del resto facilmente presumibile, che sì il cito- che il carioplasma si fossero del tutto trasformati e disgregati negli elementi chimici e morfologici che ne sono i costitutivi. Invece dei resultati positivi si ottennero dall'esame dei preparati tratti dai frammenti che erano stati per 48 ore in liquido di Flemming.

Esaminati questi in un primo tempo, si scorgeva, in mezzo ad una tinta diffusa con riflessi nerastri, qualche punto ove si disegnavano come delle piccolissime circonferenze circoscritte da degli aloni neri, sottili e più o meno incompleti. In un secondo tempo poi (cioè a distanza di qualche giorno), i prepa-

rati assunsero l'aspetto ben netto e caratteristico rappresentato dall'unita tavola (che riproduce i particolari ottenuti costantemente nell'esame di moltissimi preparati) nè più lo perdettero; in essi, in mezzo ad un detrito amorfo, si scorgevano una quantità di sferule tinte intensamente in nero, evidentemente rappresentanti goccioline grassose minime, in alcuni punti confluenti (V. figure 1 e 2).

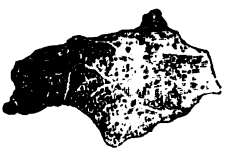


FIGURA 1.
(Koristka Oc. 4. Obb. 6ª).

FIGURA 2.
(Koristka Oc. 4. Imm. omog.).

Questo grasso, così individualizzato, non potendo aver avuto provenienza di infiltrazione, deve aver avuto necessariamente una origine endogena in seno al tessuto albuminoide che andava disfacendosi; e, se esso è ancora identificabile in mezzo ai residui amorfi della distruzione di quel tessuto, in parte, dipende dal fatto che esso cronologicamente è più giovane, rappresentando una tappa di trasformazione regressiva delle proteine muscolari; in parte, è attribuibile alle circostanze che il grasso è di sua natura enormemente resistente ai processi di riduzione, come è noto per pratica e come l'esperimento ha confermato [1].

Con le risultanze dell'indagine chimica le quali dimostrano come siasi *formata* una quantità non indifferente di acidi grassi superiori in condizioni tali da non poterla interpretare diversamente che come prodotto di una metamorfosi della molecola albuminoide del muscolo, concorda adunque la osservazione diretta microscopica la quale ha dimostrato come, effettivamente, la sostanza grassa prendesse origine in seno alla intima trama dei residui dei tessuti. Così le conclusioni del-

[1] Cfr. TAMASSIA, *Sulle trasformazioni putrefattive degli adipi.* (Rivista sperimentale di freniatria e di medicina legale, anno IX, 1883, fasc. 1°).

l'esperimento del *Voit* vengono ad essere confermate e completate e vien messa in nuova evidenza quella analogia tra le trasformazioni regressive del complesso chimico albuminoide facente parte di tessuti, vuoi viventi, vuoi morti, dalla quale i patologi traggono una riprova della giustezza delle vedute che attribuiscono ad una trasformazione locale delle sostanze proteiche l'origine del grasso nei processi degenerativi. Analogia che assume anche consistenza maggiore, quando si ripensi come i fatti degenerativi *in vivo* rappresentino l'esponente e l'esito di una morte lenta di tessuti e di elementi dei quali venga ad essere profondamente alterato l'intimo metabolismo; analogia che si scorge altresì nelle condizioni comuni della formazione del grasso per effetto della trasformazione della molecola albuminoide del protoplasma; condizioni che sono assolutamente identiche rispetto, tanto all'elemento vivo che a quello morto, e che si identificano, da un lato, in quei fattori che sono efficaci a provocare una notevole (rispettivamente esagerata) disgregazione delle proteine; dall'altro, nella incapacità (rispettivamente impossibilità, per effetto delle condizioni del *medium*) a fissare l'ossigeno.

Pur essendo la riduzione cadaverica un processo costante nelle sue leggi fondamentali, le circostanze estrinseche hanno facoltà — come è noto — di modificarne, e quantitativamente e qualitativamente, l'andamento; e noi vediamo appunto verificarsi quelle modificazioni qualitative che adducono alla saponificazione, allorquando le circostanze estrinseche sono tali da *limitare* l'afflusso dell'O. (che è l'alimentatore della fucina delle distruzioni cadaveriche, vuoi come agente di ossidazione vuoi come mediatore della vita dei saprofiti aerobj); onde accade che, pur dovendo entrar in atto un processo di dissolvimento, di sua natura rapido, della molecola organica del tessuto morto, esso non si effettua in modo così tumultuario e fulmineo da non consentire quasi delle tappe intermedie di riduzione. Di maniera che, secondo queste vedute, il processo della saponificazione del cadavere realizzerebbe, in parte, quanto, secondo una concezione speculativa, si vuole scorgere nel fatto della putrefazione; vale a dire una scissione progressivamente

semplificatrice della molecola composta quaternaria ridotta all'aggregato ternario e quindi al binario, ed infine al corpo semplice restituito così alla circolazione della vita; col che si addiverrebbe ad una mineralizzazione finale, in una parola, del composto organico di formula superiore.

Qual valore specifico abbia la sommersione nella genesi del processo di saponificazione, malagevole è l'appurarlo: certo che, oltre all'empirismo, la sperimentazione permette di stabilire che la condizione di umidità ne rappresenta un coefficiente, insieme alla limitazione nell'afflusso dell'O., alla scarsità di rigoglio della flora batterica ed alla, relativamente lenta, riduzione putrefattiva. Egli è certo, peraltro, che la determinazione del fenomeno, più che la coincidenza di questi fattori o la sufficiente supremazia del singolo tra di essi, ne richiegga piuttosto la reciproca integrazione; perocchè, come non in tutti i cadaveri dei sommersi si trova l'adipocera, la si riscontra, viceversa, in condizioni differenti quando, insieme ad un bastevole grado di umidità, vi sia di che ritenere come in atto la concorrenza degli altri tre coefficienti ora ricordati.

Io non sarei alieno dall'inclinare a ritenere che, se il processo di saponificazione lo si osserva con sì relativa frequenza nei cadaveri dei sommersi, da averne fatto quasi un reperto caratteristico della sommersione di lunga data, ciò non tanto rappresenti l'effetto di una causa di specificità esclusiva, quanto sia il portato di circostanze di opportunità, le quali fanno sì che i cadaveri, i quali soggiornarono più o meno lungo tempo sotto l'acqua, fra tutti quelli che si trovano eventualmente sottoposti all'azione concorrente dei quattro momenti coefficienti or ora ricordati, sono quelli che più facilmente cadono sotto l'osservazione. Ma egli è fondatamente presumibile che altresì in altre circostanze di luogo, e segnatamente in quelle dell'inumazione propriamente detta, dato uno stato piuttosto rilevante di umidità, possano ricorrere le condizioni concorrenti alla produzione del grasso cadaverico. È, del resto, appena lecito ricordare come sulla saponificazione dei cadaveri fosse richiamata la prima volta l'attenzione dal *Touret* e dal *Fourcroy*, in occasione delle *esumazioni* fatte su larga scala, nel cimitero de-

gli Innocenti di Parigi; e basta leggere la descrizione di *Orfila* [1] per comprendere come, in quel caso, si verificasse appunto la condizione di concorrenza etiologica di cui ho parlato. Io, per parte mia, dall'osservazioni tanatoscopiche eseguite su cadaveri esumati dopo un tempo relativamente lungo di interramento, trassi il convincimento che la saponificazione, almeno parziale, dei cadaveri sia un fatto, se non abituale, certo molto più frequente di quanto comunemente si creda anche nelle condizioni consuetudinarie dell'interramento.

Tutte le considerazioni qui svolte ed i fatti accertati verrebbero a riportare in onore le prime ed antiche vedute che si avevano sulla formazione dell'adipocera considerata quale prodotto di trasformazione regressiva delle sostanze albuminoidi verificabile in determinate condizioni di ambiente. Il che non significa, peraltro, che si debba escludere, come fenomeno concorrente, la saponificazione dei grassi preesistenti in sito durante la vita o giunti a migrare a distanza *post-mortem*, per effetto di azioni meccaniche messe in atto dalla dinamica idraulica del processo di putrefazione.

Come conclusione di quanto è esposto è lecito dire:

1° che alla determinazione del processo di saponificazione dei cadaveri non è richiesta l'azione di particolari microrganismi;

2° che dal muscolo normale, sommerso per lungo tempo in condizioni di amicrobismo d'ambiente, si ricavano dei grassi certamente neoformati in seno alla sostanza muscolare;

3° che di tale produzione endogena di grasso si può ottenere la prova microchimica.

## Bibliografia.

CÖSTER, Zur Entstehung des Fettwachses. (Vierteljahrsschr. f. gerichtliche Medicin, N. F., Bd. L, 1889).

ERMAN, Beitrag zur Kenntniss der Fettwachsbildung. (Vierteljahrsschrift für gerichtliche Medicin, N. F. 1882, Bd. XXXVII).

---

[1] *Esumazioni giudiziarie*, trad. italiana, Verona 1835, Vol. I, p. 283 e segg.

HOFMANN, Ueber einige Leichenerscheinungen. (Verhandl. des X Intern. medic. Congresses zu Berlin. 1890. Section f. gerichtliche Medicin).

KRATTER, Studien ueber Adipocire. (Zeitschrift für Biologie, 1880, Bd. XVI).

KRATTER, Ueber einige forensisch wichtige Befunde bei Wasserleichen und die Bedeutung des Leischenwachses für die gerichts-ärztliche Praxis. (Mittheilungen des Verein der Aerzte in Steiesmark für das Vereinsjahr 1886. Graz, 1887).

KRATTER, Ueber die Zeitfolge der Fettwachsbildung. Friedreich's Blätter f. gerichtliche Medicin 1890, pag. 350).

KRATTER, Adipocire. (Eulemb. Real-Encyklopädie, 3 Aufl. Bd., I. 1894).

LEHMANN, Ein Beitrag zur Frage nach der Entstehung des Leichenwachses aus Eiweiss. (Sitzungsber, der Würzbürger phys. med. Gesellschaft, 1888).

LOMBROSO. Formazione dell'Adipocera. (Cfr. la sue Lezioni di medicina legale, 2ª edizione, 1900, pag. 516).

LUDWIG, Leichenfett. (Eulemb. Rael-Encyklopädie, 1887, 2 Aufl, XI).

REUBOLD, Bemerkungen über Adipocire. (Sitzungsbericht der Würzbürg phys.-med. Gesellschaft, 1885).

SIERADZKI, Ueber Fettwachsbildung in Leichen. (Krakau, 1898).

TAMASSIA, Sulla produzione artificiale dell'Adipocera. (Gazzetta medica italiana delle provincie venete XXVII, 18, nº 1).

VIRCHOW, Ueber die Adipocirebildung. (Verhandlung. der phys. med. Gesellschaft zer Würzburg, 1852).

VOIT, Versuche über Adipocirebildung. (Münchener medicinische Wochenschrift, 1888, n. 31).

ZILLNER, Zur Kenntniss des Leichenwachses. (Vierteljahrsschrift für gerichtliche Medicin, N. F., 1885, Bd. XLII).

Istituto d'Igiene della R. Università di Sassari.

# CONTRIBUTO ALLA DIFFUSIONE DEGLI ENZIMI PROTEOLITICI NEL REGNO ANIMALE.

RICERCHE

DEL

PROF. CLAUDIO FERMI

E DELLO STUDENTE

R. REPETTO.

Seguendo il noto metodo di uno di noi (*Fermi*) abbiamo ricercata la presenza dell'enzima proteolitico:

1° Nei vertebrati e negli invertebrati, dividendoli per comodità, a seconda del loro regime alimentare, in carnivori, erbivori, granivori, insettivori, omnivori e succiatori.

2° Riguardo agli artropodi si ricercò nelle uova, nelle larve, nelle crisalidi e negli animali perfetti.

3° Negli animali morti per inanizione.

4° Nei feti di varii mammiferi.

5° Nelle feci di mammiferi ed uccelli.

6° Nel pancreas conservato per un certo tempo in varie sostanze chimiche.

7° Nell'intestino di insetti disseccati e conservati da molto tempo.

8° Si è infine ricercata l'azione esercitata da alcune sostanze coloranti sull'enzima proteolitico.

*Metodi di ricerca dell'enzima proteolitico.* — Si depone una particella del peso di $^1/_2$-5 mg. della parte da esaminare, ben lavata in una soluzione di acido fenico (per evitare lo sviluppo di germi fluidificanti) sulla gelatina fenica [1] solidificata in sottile strato su di una lastra di vetro.

La zona della gelatina fluidificata è quasi sempre circolare e se ne può misurare il diametro in millimetri.

[1] Così preparata: Gelatina marca d'oro 5 % d'inverno e 10 % d'estate, ac. fenico 0,5 %.

Per l'analisi quantitativa si versa in tubetti graduati, contenenti una data quantità di gelatina, una determinata quantità di liquido in cui si vuol ricercare l'enzima, e dopo 12, 24, 48 ore si misura in millimetri la gelatina fluidificata. Questo metodo supera in sicurezza e sensibilità tutti gli altri conosciuti in biologia.

Un altro metodo d'analisi quantitativa è il seguente: si pone 1 ccm. o 0,5 o 0,1 ccm. di gelatina al 2 % o 3 % e fenicata al 0,5 % in tubetti di vetro del lume di 3 mm.; vi si versa una goccia di liquido da esaminare e si mette il tubetto nel termostato; dopo ogni ora si toglie il medesimo, si pone per mezz'ora alla temperatura di 10° e si osserva se la gelatina ha perduto o no la proprietà di solidificare. Oltre la gelatina comune usammo la gelatina alcalina (al carbonato sodico) per aumentarne la sensibilità, ed anche una gelatina acida (all'acido cloridrico e lattico) per ricercare gli enzimi prevalentemente acidofili.

## Risultati ottenuti.

A. *Mammiferi ed Uccelli. — Nel pancreas dei mammiferi e degli uccelli si è sempre osservata la presenza dell'enzima proteolitico, senza grande differenza di attività fra i vari gruppi di animali. Qualche differenza si trovò pei vari tratti dell'intestino.*

### Mammiferi.

| | Pancreas | Tenue |
|---|---|---|
| *a*) Erbivori: | | |
| 1° Bos taurus | 10 mm. | 5 mm. |
| 2° Lepus cuniculus | 15 » | 10 » |
| 3° Cavia cobaya | 12 » | 6 » |
| *b*) Carnivori: | | |
| 1° Canis familiaris | 20 » | 15 » |
| *c*) Insettivori: | | |
| 1° Erinaceus aeuropeus | 10 » | 10 » |
| *d*) Omnivori: | | |
| 1° Sus scrofa | 10 » | 5 » |
| 2° Mus decumanus | 10 » | 10 » |

## Uccelli.

| | Gelatina al carbonato di sodio | | All' acido cloridrico | | All' acido lattico | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Pancreas | Tenue | Pancreas | Tenue | Pancreas | Tenue |
| *a)* CARNIVORI: | | | | | | |
| 1° Falco tinnunculus... | 25 mm. | 20 mm. | — | — | — | — |
| 2° Larus argentatus... | 20 » | 18 » | 14 mm. | 13 mm. | — mm. | — mm. |
| 3° Corvus cornix..... | 20 » | 10 » | — | — | — | — |
| 4° Athene noctua..... | 10 » | 5 » | — | — | — | — |
| 5° Strix flammea..... | 8 » | 5 » | — | — | — | — |
| *b)* GRANIVORI: | | | | | | |
| 1° Glycispina hortulana.. | 25 » | 0 » | — | — | 20 » | 15 » |
| 2° Passer domesticus... | 20 » | 17 » | 8 » | 7 » | 16 » | 14 » |
| 3° Alauda arvensis..... | 20 » | 15 » | — | — | — | — |
| 4° Gallus domesticus... | 20 » | 13 » | 10 » | 3 » | 0 » | 0 » |
| 5° Coccabis rubra..... | 15 » | 15 » | 8 » | 6 » | 7 » | 7 » |
| 6° Coturnix communis.. | 15 » | 15 » | 0 » | 3 » | 0 » | 5 » |
| 7° Columba livia..... | 14 » | 0 » | 10 » | 0 » | 5 » | 0 » |
| 8° Fringilla carduelis... | 12 » | 5 » | 20 » | 13 » | 12 » | 5 » |
| 9° Spinus viridis..... | 8 » | 7 » | 0 » | 0 » | — | — |

| | Gelatina al carbonato di sodio | | All' acido cloridrico | | All' acido lattico | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Pancreas | Tenue | Pancreas | Tenue | Pancreas | Tenue |
| *c*) VERMIVORI: | | | | | | |
| 1° Gallinago gallinula... | 18 mm | 13 mm. | 7 mm. | 0 mm. | 0 mm. | 0 mm. |
| 2° Vanellus cristatus... | 17 » | 14 » | 6 » | 6 » | 0 » | 0 » |
| *d*) INSETTIVORI: | | | | | | |
| 1° Upupa epops..... | 25 » | 15 » | 10 » | 7 » | 10 » | 10 » |
| 2° Parus major..... | 24 » | 22 » | 13 » | 11 » | 10 » | 9 » |
| 3° Parus palustris..... | 20 » | 20 » | 0 » | 0 » | 0 » | 0 » |
| 4° Cypselus apus..... | 20 » | 15 » | — | — | — | — |
| 5° Merops apiaster.... | 10 » | 15 » | 5 » | 5 » | 5 » | 5 » |
| *e*) OMNIVORI: | | | | | | |
| 1° Monedula turrium.... | 22 » | 16 » | 8 » | 6 » | 20 » | 11 » |
| 2° Turdus merula..... | 15 » | 13 » | 15 » | 14 » | 15 » | 12 » |
| *f*) ERBIVORI: | | | | | | |
| 1° Fulica atra. | 18 » | 15 » | 10 » | 8 » | 10 » | 5 » |

B. *Rettili ed Anfibi.* — Nel pancreas e nell'intestino dei rettili e degli anfibi si è verificata la presenza dell'enzima proteolitico:

| | Gelatina al carbonato di sodio | | All'acido cloridrico | | All'acido lattico | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Pancreas | Tenue | Pancreas | Tenue | Pancreas | Tenue |
| 1° Tropidonotus natrix ..... | 5 mm. | 6 mm. | 5 mm. | 3 mm. | 0 mm. | 0 mm. |
| 2° Discoglossus. | 18 » | 10 » | 0 » | 0 » | 0 » | 0 » |
| 3° Lacerta muralis ..... | 15 » | 15 » | 0 » | 4 » | 5 » | 6 » |

C. *Pesci.* — *Nelle appendici piloriche e nell'intestino dei pesci riscontrammo un enzima proteolitico molto attivo.*

D. *Insetti.* — Degli insetti si è esaminato il tubo digerente suddividendolo in parte cefalica, toracica ed addominale. Dalle varie esperienze si è ottenuto che qualche volta le glandule salivari e l'esofago contengono enzimi proteolitici, i quali però sono più attivi nell'intestino. Talora trovammo l'enzima proteolitico mancante nello stadio completo di vari insetti ed invece attivo nello stadio larvale, talora osservammo il contrario. Queste differenze si spiegano con l'alimentazione di sostanze più o meno assimilabili, come già risulta anche dall'apparecchio trituratore e succiatore del quale è provvisto lo stadio dell'insetto stesso.

Per la stessa ragione l'enzima è diffuso negli insetti omnivori, carnivori, erbivori e mancante nella maggior parte dei succiatori.

## Insetti. (1)

| | Gelatina al carbonato di sodio 2 % | | | All' acido cloridrico 3 % | | | All'acido lattico 1 % | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Testa | Torace | Addome | Testa | Torace | Addome | Testa | Torace | Addome |
| *a*) ERBIVORI: | | | | | | | | | |
| CARNIVORI: | | | | | | | | | |
| OMNIVORI: | | | | | | | | | |
| 1° Bubos bison | + | ∓ | ♏ | ○ | + | ∓ | | | |
| 2° Atenchus laticollis | + | ∓ | ♏ | ○ | + | ∓ | ○ | ○ | + |
| 3° Blaps mucronata | ∓ | ♏ | ♏ | + | + | ± | ○ | ○ | + |
| 4° Percus | ○ | ○ | + | | | | | | |
| 5° Pristonychus algerinus | ♏ | ♏ | ♏ | + | + | ∓ | + | + | + |
| 6° Hister bimaculatus | ∓ | ∓ | ∓ | + | + | + | ○ | + | + |
| 7° Scaurus striatus | ○ | ○ | + | | | | | | |
| 8° Licinus granulatus | ○ | + | ♏ | ○ | ○ | ∓ | ○ | ○ | + |
| 9° Akis spinosa | + | ♏ | ♏ | + | ∓ | + | | | |
| 10° Oyctes nasicornis | + | ∓ | ∓ | ○ | ○ | + | + | + | + |
| 11° Hister major | ∓ | ♏ | ♏ | | | | | | |
| 12° Eropinota irta | ○ | ○ | + | ○ | ○ | + | ○ | ○ | + |
| 13° Chrysomela varians | ○ | + | ∓ | | | | | | |
| 14° Ocypus olens | ∓ | ∓ | ♏ | ○ | + | + | ○ | + | + |
| 15° Carabus morbillosus | + | ∓ | ∓ | | | | | | |
| 16° Agabres chaleonotus | ○ | ○ | ♏ | | | | | | |
| 17° Brachycerus corrosus | ○ | + | + | ○ | + | ∓ | ○ | ○ | + |
| 18° Coccinella septempunctata | + | + | ♏ | | | | | | |

(1) *Spiegazione della tavola.* — Il segno + indica attivo, ∓ più attivo, ♏ attivissimo, ○ inattivo.

| | Gelatina al carbonato di sodio | | | All'acido cloridrico | | | All'acido lattico | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Testa | Torace | Addome | Testa | Torace | Addome | Testa | Torace | Addome |
| 19° Melolonta vulgaris... | ○ | ○ | ∓ | ○ | ○ | ∓ | ○ | ○ | + |
| 20° Acridium aegyptium. | + | ∓ | ♏ | + | ∓ | ∓ | | | |
| 21° Gryllus campestris... | ○ | + | ∓ | | | | | | |
| 22° Gryllotalpa vulgaris. | ○ | + | ∓ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ |
| 23° Noctonecta glauca .. | ○ | ○ | + | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ |
| 24° Blatta orientalis.... | + | + | ∓ | + | ∓ | + | ○ | ○ | ○ |
| 25° Nepa cinerea..... | ○ | + | + | ○ | ○ | + | ○ | ○ | + |
| 26° Locusta viridis..... | + | ∓ | ∓ | | + | + | ○ | ○ | + |
| 27° Mantis religiosa..... | ○ | + | ∓ | | | | | | |
| *b*) Succiatori: | | | | | | | | | |
| 1° Culex pipiens (anim. perf.)..... | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ |
| » crisalide..... | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ |
| » larva..... | ○ | ∓ | + | ○ | + | + | ○ | ○ | + |
| » uova..... | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ |
| 2° Gastrus equi ..... | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ |
| 3° Vespa crabro (anim. perf.)..... | ○ | ○ | + | ○ | ○ | + | ○ | ○ | ○ |
| » crisalide..... | ○ | ○ | + | ○ | ○ | + | ○ | ○ | ○ |
| » larva..... | ○ | + | + | ○ | ○ | + | ○ | ○ | + |
| 4° Ephemera vulgata (animali perf.)..... | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ |
| » larva..... | ○ | + | ∓ | ○ | + | + | ○ | + | + |
| 5° Vanessa cardui..... | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ |
| 6° Lucilia (anim. perf.) . | ○ | ○ | + | ○ | ○ | + | ○ | ○ | + |
| » crisalide..... .. | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ |
| » larva.... ..... . ... | + | + | ∓ | ∓ | + | + | + | + | + |
| » uova . ..... | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ |
| 7° Musca vomitoria..... | ○ | ○ | + | ○ | ○ | + | ○ | ○ | + |

*Dalle esperienze fatte risulta che le uova degli insetti* (culex, lucilia) *non contengono enzimi proteolitici. Se ne nota la presenza invece in alcune larve* (culex) *sin dal primo giorno del loro sviluppo.*

*Aracnidi* e *Miriapodi.* — In alcuni di questi si è notata la presenza di enzimi proteolitici, tranne che nei succiatori.

| | Testa | Torace | Addome |
|---|---|---|---|
| Scorpio europaeus. . | + | ∓ | ∓ |
| Scolopendra forficata. | ○ | + | + |
| Ixodes ricinus . . . | ○ | ○ | ○ |

*Vermi.* — Nei vermi parassiti si è sempre ottenuto risultato negativo, dovuto probabilmente al loro modo di nutrizione che non richiede la necessità di enzimi:

| | | | |
|---|---|---|---|
| Ascaris lumbricoides. | ○ | Taenia mediocanellata. | ○ |
| Ascaris vituli . . . | ○ | Eustrongilus gigas . . | ○ |
| Taenia solium . . . | ○ | Gordius aquaticus . . | ○ |

L'*Erakis inflexa* e la *Taenia exilis* del pollo avrebbero presentato tracce di fluidificazione dal terzo al quarto giorno.

*Ormogaster Redii Rosa.* — In questo lombrico si è trovato che la parte più attiva dell'intestino è anche la più vascolarizzata e corrisponde al punto dove l'esofago si allarga.

*L'enzima proteolitico negli animali sottoposti all'inanizione.* — Lasciando degli animali a digiuno per un dato tempo e lasciandoli morire per inanizione, si osserva che l'attività dell'enzima proteolitico diminuisce di molto.

| | Pancreas | Tenue |
|---|---|---|
| 1° Colombo morto per inanizione. | 8 mm. | ○ |
| Colombo di controllo . . . . | 14 » | ○ |
| 2° Lucertola morta per inanizione. | 10 » | ○ |
| Lucertola digiuna per 20 giorni. | 13 » | ○ |
| Lucertola di controllo. . . . | 15 » | 15 |
| 3° Falco morto per inanizione . . | 12 » | |
| 4° Falco di controllo . . . . . | 25 » | |

*Presenza dell'enzima proteolitico nel pancreas e nell'intestino dei feti.*

A — **Feti di Bue.**

Lunghezza dal vertice della testa all'ano:

| | | |
|---|---|---|
| 1° *16 cm.* | | |
| Pancreas. . . | + | + |
| Tenue. . . . | ○ | ○ |
| 2° *25 cm.* | | |
| Pancreas. . . | + | + |
| Tenue. . . . | ○ | ○ |
| 3° *27 cm.* | | |
| Pancreas. . . | + | + |
| Tenue. . . . | ○ | ○ |
| 4° *30 cm.* | | |
| Pancreas. . . | + | + |
| Tenue. . . . | ○ | ○ |
| 5° *31 cm.* | | |
| Pancreas. . . | + | + |
| Tenue. . . . | ○ | ○ |
| 6° *35 cm.* | | |
| Pancreas. . . | + | + |
| Tenue. . . . | ○ | ○ |
| 7° *feto di 50 giorni:* | | |
| Pancreas. . . | + | + |
| Tenue. . . . | ○ | ○ |
| 8° *feto di 2 mesi:* | | |
| Pancreas. . . | + | + |
| Tenue. . . . | ○ | ○ |
| 9° *feto di 3 mesi:* | | |
| Pancreas. . . | + | + |
| Tenue. . . . | ○ | ○ |
| 10° *feto di 4 mesi:* | | |
| Pancreas. . . | + | + |
| Tenue. . . . | ○ | ○ |
| 11° *feto di 7 mesi:* | | |
| Pancreas. . . | + | + |
| Tenue. . . . | + | + |

### B — Feti di Maiale.

Lunghezza dal vertice della testa all'ano:

1° *23 cm.*

| | | |
|---|---|---|
| Pancreas. . . | + | + |
| Tenue. . . . | ○ | ○ |

2° *25 cm.*

| | | |
|---|---|---|
| Pancreas. . . | + | + |
| Tenue. . . . | ○ | ○ |

### C — Feti di Pecora.

Lunghezza dal vertice della testa all'ano:

1° *31 cm.*

| | | |
|---|---|---|
| Pancreas. . . | + | + |
| Tenue. . . . | + | + |

2° *34 cm.*

| | | |
|---|---|---|
| Pancreas. . . | + | + |
| Tenue. . . . | + | + |

### D — Feti di Cane.

Lunghezza dal vertice della testa all'ano:

*Cm. 13 ½.*

| | | |
|---|---|---|
| Pancreas. . . | + | + |
| Tenue. . . . | ○ | ○ |

*Risultato. — Riassumendo si ha che l'enzima proteolitico compare sul pancreas del feto bovino della lunghezza di 16 cm., mentre nel tenue si riscontra energico soltanto a 7 mesi.*

*Per la pecora si riscontra già attivo nel feto della lunghezza di 31 cm., mentre nel tenue si trova palese a 34.*

*Per il maiale si trova nel pancreas già attivo a 23 cm. di lunghezza mentre nel tenue è inattivo.*

*Nel cane si osserva a 13 cm. attivo nel pancreas, inattivo nel tenue.*

*Presenza dell'enzima nelle feci. — Si è osservata la presenza dello enzima proteolitico specialmente nelle feci di animali carni-*

*vori* (cane, gatto) *ed omnivori* (maiale) (ad eccezione dell'uomo), *mentre si trovò assente in quelle di vari erbivori* (cavallo, asino, bue, coniglio, cavia). Nelle feci degli uccelli si è osservato in quasi tutte la presenza dell'enzima.

α) — **Mammiferi.**

Feci *a*) *Omnivori:*

1° Uomo . . . ∓ + ♏ ○
2° Maiale. . . 7 mm.

*b*) *Carnivori:*

1° Cane . . . mm. 10
2° Gatto . . . mm. 12

*c*) *Erbivori:*

1° Cavallo . . . . . ∓ ○
2° Asino . . . . . ∓ ○
3° Bue . . . . . ∓ ○
4° Pecora . . . . . ∓ ○
5° Coniglio . . . . . ∓ ○
6° Cavia . . . . . ∓ ○

β) — **Uccelli.**

1° Falcus tinnunculus . . . 15 mm.
2° Strix flammea . . . . . 15 mm.
3° Passer. domesticus . . . 15 mm.
4° Monedula turrium. . . . 12 mm.
5° Fringilla carduelis . . . 12 mm.
6° Glycispina hortulana. . . 12 mm.
7° Spinus viridis . . . . . 10 mm.
8° Chloris hortensis . . . . 10 mm.

*Mezzi per conservare l'enzima proteolitico.* — 1°. Conservasi l'attività di pezzi di pancreas con qualche attenuamento dell'enzima proteolitico nel petrolio, nell'acido fenico al 2 % e nella glicerina per circa tre mesi; viene distrutta quasi completamente l'attività dopo 1 anno. Nell'etere, nella benzina, nella formalina al 2 %, nell'alcool amilico dopo poco tempo si osserva la perdita dell'attività dell'enzima.

Risultato ottenuto dal pancreas di coniglio conservato *per 10 giorni in:*

| | | |
|---|---|---|
| 1° | Acido fenico | 20 mm. |
| 2° | Xilolo | 20 » |
| 3° | Glicerina | 17 » |
| 4° | Cloroformio | 17 » |
| 5° | Alcool | 15 » |
| 6° | Acqua | 13 » |
| 7° | Petrolio | 11 » |
| 8° | Formalina 1 % | 10 » |
| 9° | » 4 % | 6 » |
| 10° | Etere | 0 » |

*Dopo 20 giorni:*

| | | |
|---|---|---|
| 1° | Acido fenico | 20 mm. |
| 2° | Xilolo | 20 » |
| 3° | Cloroformio | 17 » |
| 4° | Glicerina | 16 » |
| 5° | Petrolio | 10 » |
| 6° | Acqua | 10 » |
| 7° | Alcool | 5 » |
| 8° | Alcool amilico | 0 » |
| 9° | Benzina | 0 » |
| 10° | Formalina 1 %-4 % | 0 » |

*Dopo 1 mese:*

| | | |
|---|---|---|
| 1° | Acido fenico | 20 mm. |
| 2° | Xilolo | 20 » |
| 3° | Cloroformio | 17 » |
| 4° | Glicerina | 15 » |
| 5° | Petrolio. | 19 « |
| 6° | Alcool | 5 » |

*Dopo 2 mesi:*

| | | |
|---|---|---|
| 1° | Cloroformio | 16 mm. |
| 2° | Acido fenico | 12 » |
| 3° | Pètrolio. | 10 » |
| 4° | Glicerina | 9 » |
| 5° | Alcool | 0 » |

*Dopo 3 mesi:*

| | | |
|---|---|---|
| 1° | Petrolio . . . . . | 15 mm. |
| 2° | Acido fenico . . . . . | 5 » |
| 3° | Glicerina . . . . . | 5 » |
| 4° | Cloroformio . . . . . | 0 » |

*Dopo 1 anno:*

| | | |
|---|---|---|
| 1° | Acido fenico . . . . . | 2 mm. |
| 2° | Petrolio. . . . . | 0 » |
| 3° | Glicerina . . . . . | 0 » |

2) *Attività del pancreas e del tenue conservato nel solfato di calce* (disseccamento). — Pezzi di pancreas e tratti di intestino di mammiferi ed uccelli conservarono la loro attività, sepolti nel solfato di calce in polvere, oltre un anno.

| | | Pancreas | Tenue |
|---|---|---|---|
| 1° | Canis fam. . . | 20 mm. | |
| 2° | Fulica atra . . | 18 » | 15 mm. |
| 3° | Cornix corax . | 18 » | 10 » |
| 4° | Gallinago gall.. | 15 » | 10 » |

3) *Attività dell' intestino d'insetti disseccati e conservati a lungo.* — Gli enzimi proteolitici di una serie numerosa di insetti disseccati nella stufa conservarono la loro attività anche dopo un 1 anno:

| | | Testa | Torace | Addome |
|---|---|---|---|---|
| 1° | Akis spinosa . . . . . | + | ∓ | ∓ |
| 2° | Blaps mucronata. . . | + | + | ∓ |
| 3° | Brachycerus corosus. . | ○ | + | + |
| 4° | Atheucus laticollis . . | ○ | + | + |
| 5° | Oryctes nasicornis . . | + | + | ∓ |
| 6° | Grillus camp. . . . . | ○ | + | + |
| 7° | Vanessa cardui. . . . | ○ | ○ | ○ |
| 8° | Acridium aeg.. . . . | + | + | ♏ |
| 9° | Blatta orient. . . . . | ○ | ○ | + |
| 10° | Carabus morbil. . . . | + | + | ∓ |
| 11° | Coccinella septemp.. . | + | + | ∓ |
| 12° | Noctonecta glauca . . | ○ | ○ | + |

4) *Azione di alcune sostanze coloranti sugli enzimi.* — Siccome per far risaltare maggiormente la presenza dell'enzima proteolitico usammo colorare la gelatina con colori di anilina; così potemmo fare le seguenti osservazioni: Non si riscontrò alcuna azione deleteria pel violetto di genziana, per il bleu di metilene, per l'eosina, per il rosso congo, per il carminio, per l'ematosillina, nè per il bleu di Berlino, ma solo tracce di attenuamento per azione della vesuvina.

Istituto farmacologico della R. Università di Bologna, diretto dal Prof. Ivo Novi.

# INFLUENZA DEL RISCALDAMENTO E DELLE SOSTANZE ALIMENTARI SULLA FREQUENZA DEI MOVIMENTI CARDIACI NEGLI ANIMALI DIGIUNANTI.

STUDIO CRITICO SPERIMENTALE

DEL

DOTT. ANGELO PUGLIESE

assistente e libero docente di Fisiologia.

(Con 9 incisioni).

Nei miei studî sull'azione fisiologica delle sostanze alimentari sull'organismo (1) ho potuto dimostrare, che gli zuccheri, i grassi e le sostanze proteiche fanno aumentare notevolmente nei cani astinenti la frequenza del cuore e la temperatura del corpo, quando però quest'ultima si sia abbassata, per effetto del digiuno, al di sotto della normale. Dopo la somministrazione dell'alimento, la temperatura sale fino ad avvicinarsi a quella che il cane aveva in condizioni normali di nutrizione.

Questa influenza delle sostanze alimentari sulla temperatura organica fu confermata più tardi dalle esperienze dell'*Ugolino Mosso* (2) sulla temperatura del corpo nel digiuno, e sulla

(1) A. Pugliese, *Azione fisiologica delle sostanze alimentari sull'organismo.* Nota I. Influenza sui movimenti respiratorii e cardiaci e sul fenomeno della rarefazione espiratoria del palpito cardiaco. (Bullettino delle Scienze Mediche di Bologna, Serie VII, Vol. VI, fascicolo del dicembre 1895). Nota II. La termogenesi in rapporto alle sostanze alimentari studiata sugli animali nutriti e a digiuno. (Bullettino delle Scienze Mediche di Bologna, Serie VII, Vol. VI, fascicolo del gennaio 1896).

(2) Ugolino Mosso, *Temperatura del corpo nel digiuno e velocità di assimilazione degli idrati di carbonio.* (Rendiconto delle R. Accademia dei Lincei, Vol. IX, Serie V, fascicolo 3°, seduta del 4 febbraio 1900). — Idem, *Velocità di assorbimento e di assimilazione degli albuminoidi e dei grassi.* (Rendiconti della R. Accademia dei Lincei, Vol. IX, Serie V, fascicolo 4°, seduta del 18 febbraio 1900).

velocità di assorbimento e assimilazione degli albuminoidi, dei grassi e degli idrati di carbonio.

Nel mio lavoro « sull'influenza delle sostanze alimentari sui movimenti respiratorî e cardiaci e sul fenomeno della rarefazione espiratoria del palpito cardiaco », ho sostenuto che l'accresciuta frequenza dei movimenti cardiaci non dipendeva essenzialmente dal calore che dovette originarsi dall'ossidazione delle materie nutritive introdotte; ma che si trattava, con ogni verosimiglianza, di un'azione diretta di dette sostanze sul cuore, generalizzando, così, la conclusione alla quale l'*Albertoni* era già pervenuto coi suoi studî sugli zuccheri.

L'amico e collega *Barbèra* occupandosi quasi contemporaneamente a me dello stesso argomento, trovò che i grassi e gli albuminoidi non modificano nei cani nutriti nè la frequenza dei movimenti cardiaci e respiratorî, nè la temperatura del corpo ([1]), fatto che era già stato pure da me osservato.

Egli sostenne perciò che l'aumento nella frequenza del cuore dopo ingestione di sostanze grasse e azotate era dovuta nelle mie esperienze, con molta probabilità, all'accresciuta temperatura organica; a quella causa appunto, alla quale io ho attribuito una parte secondaria nella produzione del fenomeno; e che ad ogni modo i risultati da me ottenuti negli animali in inanizione, più o meno avanzata, non sono affatto applicabili ai cani che si trovano in condizioni normali di alimentazione, perchè inedia fisiologica non è equivalente di condizioni ordinarie di nutrizione.

Io avrei potuto fare osservare subito al collega *Barbèra*, il quale non trovava sufficienti le ragioni da me addotte contro l'ipotesi, che l'azione degli alimenti sull'organismo fosse in rapporto essenziale col calore originatosi dall'ossidazione delle materie nutritive, che egli aveva trascurato un punto importante della questione; la particolarità, per non dire la specificità, dell'azione delle sostanze alimentari, la quale nelle mie

---

([1]) A. Barbèra, *Influenza dei varii generi di alimentazione sulla frequenza dei movimenti cardiaci e respiratorii e sulla temperatura del corpo,* (Bullettino delle Scienze Mediche di Bologna, Serie VII, Vol. VIII, fasc. 10).

esperienze si limitò quasi esclusivamente alla circolazione. Poichè non va dimenticato che io non sperimentai già su cuori staccati dall'organismo, ma su animali viventi e dei più elevati della scala zoologica, i quali avrebbero dovuto risentire in modo più generale l'azione del calore prodottosi nelle trasformazioni chimiche del materiale alimentare, quando questa produzione di calore fosse stata sufficiente a dare le modificazioni circolatorie osservate nelle mie esperienze. E noi avremmo dovuto trovare sopratutto modificata la funzione respiratoria, la quale nei cani, com'è noto, reagisce appena che il sangue tende a riscaldarsi. La polipnea è il mezzo con cui questi animali si oppongono ad un eccessivo riscaldamento del sangue e del sistema nervoso (1), ed io ho potuto appunto dimostrare che il riscaldamento modifica assai poco la pressione sanguigna in quei cani, in cui può crescere straordinariamente la frequenza degli atti respiratorî in seguito al riscaldamento. (2)

Mi si potrebbe rispondere che nei miei esperimenti non si sarebbe potuto avere che una polipnea d'origine centrale, mancando ogni eccitamento dei nervi cutanei, e che *Richet* dimostrò che la polipnea centrale non si manifesta che negli animali con temperatura molto elevata. Ma se l'aumento della temperatura organica, presentato dai miei cani digiunanti dopo introduzione di alimento, fosse stato di per sè in grado di far crescere così straordinariamente la frequenza del cuore, avrebbe pure dovuto produrre modificazioni anche nella funzione respiratoria, la quale ha rapporti tanto stretti colla temperatura del corpo e dell'ambiente.

Ad ogni modo, convinto che le discussioni teoriche il più delle volte non riescano a mutare la convinzione delle parti dissenzienti, ho atteso che mi si presentasse l'occasione di decidere sperimentalmente; se nei miei cani in inanizione l'aumento della temperatura del corpo, che seguì alla somministra-

(1) C. Richet, *La chaleur animale.* (Bibliothèque scientifique internationale, 1889, pag. 275).

(2) A. Pugliese, *Influenza della polipnea sulla pressione sanguigna negli animali riscaldati.* (Gazzetta degli Ospedali e delle Cliniche, 1896, n. 99).

zione delle sostanze alimentari, fosse stata veramente la causa prima del forte aumento nella frequenza dei battiti cardiaci.

Nell'estate scorsa ho potuto avere a mia disposizione alcuni cani digiunanti con temperatura alquanto inferiore alla normale, ma sempre in condizioni buone, di vera inedia fisiologica; e su questi ho studiato gli effetti sul cuore e sul respiro delle sostanze alimentari e del riscaldamento. Per riscaldare gli animali mi servii di una stufa, concessami gentilmente dal chiarissimo prof. *Rovighi*, che ringrazio qui caldamente.

La stufa era di zinco, a doppia parete, collo spazio interparietale riempito d'acqua, la quale si portava alla temperatura desiderata per mezzo di fiamme a gaz. Per evitare che l'animale venisse a diretto contatto con le pareti della stufa, il collega dott. *Poggi*, che adoperò la stufa prima di me, fece collocare nell'interno della medesima una cassetta col fondo in legno e le pareti di filo di ferro, entro la quale venivano messi i cani. Questi non risentivano così che la temperatura propria dell'interno della stufa segnata da apposito termometro. Il coperchio della stufa, pure in zinco, portava nel centro una larga apertura per introdurre o levare l'animale. L'apertura si poteva chiudere per mezzo di una lastra di vetro, attraverso della quale era possibile seguire i movimenti dell'animale in esperimento.

*
* *

Ho subito notato che i miei cani messi in stufa, a differenza di quelli nutriti, che si agitano spesso violentemente, diventarono tanto calmi e tranquilli, che sembrava quasi che dormissero. L'esperienza venne così semplificata, essendo stata tolta naturalmente la grave complicazione, che lo stato d'eccitamento dell'animale avrebbe portato nei risultati.

*
* *

Riporto anzitutto le esperienze nelle quali ho studiato gli effetti del riscaldamento sulla frequenza delle pulsazioni cardiache nei cani digiunanti.

*16 giugno 1901.* — Cagnetta a digiuno da 30 giorni. Pesa kg. 3,1 e perdette in peso circa il 34 %. È vispa, sale bene le scale.

FIGURA I.

FIGURA II.

*Ore 15,15.* — T. rettale. 38,00 C. Raccolgo la grafica dell' *ictus cordis*

col metodo già praticato dall'*Aducco* e da me [1]. Nel tracciato 1 della fig. I si contano 37 pulsazioni e 6 respiri in 30″ [2]. Marcata la rarefazione del palpito cardiaco.

*Ore 15,40.* — Lo metto in stufa e lo riscaldo.

*Ore 16,20.* — T. 39,20. Lo levo di stufa e prendo la grafica 2. Quasi nessuna modificazione nella frequenza del cuore e nel fenomeno della rarefazione espiratoria del palpito cardiaco. Quasi raddoppiati, invece, gli atti respiratorii.

*Ore 16,30.* — Lo rimetto in stufa.

*Ore 16,40.* — T. 39,40. Tranquillo.

*Ore 16,46* — Comincia a respirare con più frequenza.

*Ore 16,55.* — T. 40. Polipnea intensa, ha la lingua fuori, cuore frequentissimo. Lo levo di stufa: è impossibile prendere il tracciato per la straordinaria frequenza del respiro.

*Ore 17,22.* — Cessata la polipnea, l'animale è di nuovo tranquillissimo, ha una temperatura rettale di 39. Raccolgo la grafica 3, da cui appare che il numero delle pulsazioni è notevolmente minore che al principio dell'esperienza (27 in 30″); marcatissima la rarefazione espiratoria del palpito cardiaco; respiri 8 in 30″.

Cagnetto a digiuno da 28 giorni, pesa kg. 2,8 e perdette in peso il 36 °/₀. È sempre vispo e fa rapidamente le scale.

*Ore 17,30.* — T. rettale 37,80 C. il cane è tranquillissimo, raccolgo la grafica 1 (fig. II). In 30″ si hanno 33 pulsazioni e 6 atti respiratorii, abbastanza manifesta la rarefazione espiratoria del palpito cardiaco.

*Ore 17,40.* — Lo metto in stufa già riscaldata a 39°.

*Ore 18.* — T. 38,80 sempre tranquillissimo, raccolgo la grafica 2. Immodificata, o quasi, la frequenza del cuore e del respiro.

*Ore 18,8.* — Lo rimetto in stufa.

*Ore 18,22.* — T. 39,40. Prendo il tracciato 3. Leggero aumento nel numero dei battiti cardiaci e degli atti respiratorii (39 pulsazioni e 7 respiri in 30″).

Nell'esperienza che segue ho ricercato quale influenza potesse avere sul riscaldamento in stufa, un aumento precedente della temperatura organica, ottenuto per mezzo dell'alimento.

---

(1) Tutti i cani che servirono per queste ricerche furono abituati a rimanere adagiati tranquillamente sul tavolo d'esperienza per tutto il tempo che si raccolse il tracciato.

(2) Sebbene gli atti respiratorii non siano stati raccolti graficamente, pure il loro numero risultò, quasi sempre, chiaramente dalle modificazioni respiratorie del ritmo cardiaco. Naturalmente il numero degli atti respiratorii fu preso anche direttamente, applicando il palmo della mano alle pareti toraciche.

*19 giugno.* — Cagnetta a digiuno da 25 giorni, pesa kg. 4, perdita in peso 38 °/₀ circa. È in buone condizioni, 25 ore fa ricevette 25 gr. di burro; la sua temperatura iniziale era di 37,90. Sono già molto attenuati gli effetti del grasso sulla frequenza del cuore.

*Ore 17,30.* — T. rettale 38,70. Prendo la grafica 1 nella quale si contano 38 pulsazioni e 4 respiri, marcatissima l'accelerazione inspiratoria del palpito cardiaco.

*Ore 17,40.* — Lo metto in stufa.

*Ore 18,17.* — Il cane è stato sempre tranquillissimo. T. 39,60. Si prende il tracciato 2, dal quale appare, che non si ebbe che una leggiera modificazione nella frequenza cardiaca e respiratoria (40 pulsazioni, 5 respiri in 30″).

*Ore 18,35.* — Lo rimetto in stufa e lo lascio riscaldare a lungo.

*Ore 19,46.* — Il cane è polipnoico, ha la lingua fuori; lo levo di stufa.

*Ore 19,52.* — T. 40,50, cuore straordinariamente frequente; la dispnea da calore è così intensa che non si possono numerare gli atti respiratorii.

*Ore 20,10.* — Cuore già meno frequente: come pure il respiro.

*Ore 20,20.* — Il cane è tranquillo; si raccoglie il tracciato 3, in cui si hanno 41 pulsazioni e 8-9 respiri in 30″; manifesta la rarefazione espiratoria del palpito cardiaco.

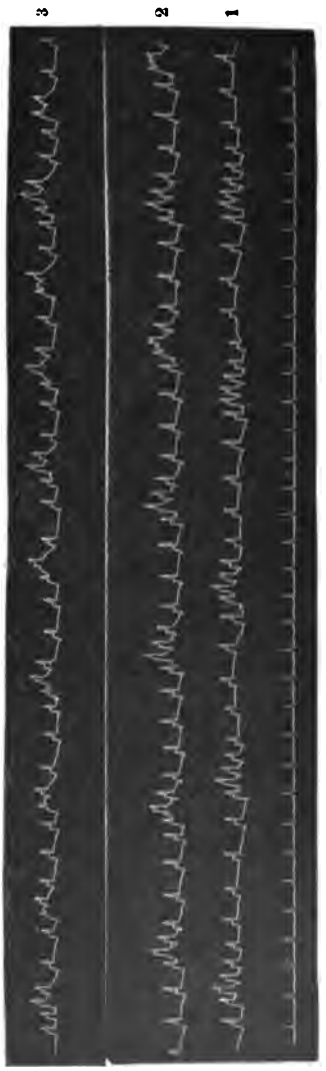



FIGURA III.

*Adunque quando si innalzò per mezzo del riscaldamento in stufa la temperatura dei cani digiunanti di gradi 1-1,20-1,60, il numero*

*dei battiti cardiaci o non aumentò o assai di poco.* Fu pure non costante l'aumento nella frequenza degli atti respiratorii, ma esso non mancò mai, quando crebbe il numero delle pulsazioni cardiache, e in un caso fu notevolissimo, quantunque il riscaldamento non abbia modificato la frequenza dei battiti cardiaci.

Quando però si spinse il riscaldamento in modo da fare salire eccessivamente la temperatura dell'animale, questo diventò polipnoico e il cuore si fece strordinariamente frequente. Ma col rapido raffreddarsi del cane si rarefece celeremente il cuore, e dopo una mezz'ora circa che il cane fu tolto di stufa, si trovò di regola il numero dei battiti cardiaci uguale e anche inferiore a quello ottenuto prima del riscaldamento, mentre la frequenza del respiro non era ancora tornata alla norma.

I risultati non variarono quando si riscaldò in stufa un cane digiunante, con temperatura già alta per precedente somministrazione di alimento.

*
* *

Accertatomi così che producendo nei cani a digiuno, col riscaldamento in stufa, un aumento della temperatura propria uguale o superiore a quello che si ottiene somministrando sostanze alimentari, si hanno modificazioni leggere e punto durature della funzione cardiaca, ho eseguito in tre altri cani digiunanti una duplice serie di ricerche. Ho riscaldato prima i cani in stufa, e cessati gli effetti del riscaldamento, ho somministrato del burro, una sostanza, quindi, che secondo il *Barbèra* non fa modificare affatto la frequenza del polso, del respiro e la temperatura del corpo.

*16 giugno 1901.* — Cagnetta del peso di kg. 8,4. In 31 giorni di digiuno ha perduto in peso il 38 %; sempre vispa, sale rapidamente le scale. Il decorso dell'intiera esperienza si vede assai bene dai seguenti tracciati.

*Grafica 1. — Avanti il riscaldamento in stufa.* La cagnetta ha una temperatura rettale di 37,40 C. In 30″ si hanno 24 pulsazioni e 6 respiri, spiccatissima l'accelerazione inspiratoria del palpito cardiaco.

*Grafica 2. — Subito dopo avere riscaldato l'animale in stufa.* Quando si termina di raccogliere il tracciato, la cagnetta presenta una temperatura rettale di 38,60 C. In 30″ si contano 34 battiti cardiaci e 9 atti respiratorii; sempre manifesta l'accelerazione inspiratoria del palpito cardiaco.

*Grafica 3. — Due ore dopo la somministrazione del burro.* Nello spazio di circa mezz'ora scomparvero gli effetti sul cuore e sul respiro del riscaldamento in stufa, e allora si somministrarono all'animale 28 gr. di burro, ossia gr. 8 per kilogr. in peso. Dopo due ore la cagnetta ha una temperatura rettale di 38,40 i battiti cardiaci sono 48, i movimenti respiratorii 7 in 30″; l'accelerazione inspiratoria del cuore è appena accennata.

*Grafica 4 — Quattro ore dopo la somministrazione del burro.* Temperatura dell'animale 38,45 C.; in 30″ si numerano 86 pulsazioni e 7 respiri; l'accelerazione inspiratoria del palpito cardiaco è completamente scomparsa.

*18 giugno 1901.* — Cagnetto a digiuno da un mese. Pesa kg 2,8 e perdette in peso circa il 40 %, però è molto vispo e sale facilmente le scale. Si riesce ad avere un buon tracciato solo con molte cautele, perchè il cane si muove ad ogni piccolo rumore. La figura seguente riassume il decorso dell'esperienza.

FIGURA IV.

*Ore 15,50.* — T. rettale del cane, 37,60 C. Raccolgo la *grafica 1*, nella quale si contano 24 pulsazioni e 5 respiri in 20″; abbastanza marcato il fenomeno della rarefazione espiratoria del palpito cardiaco.

*Ore 15,52.* — Lo metto in stufa.

*Ore 16,18.* — T. 38,60. Tranquillo.

*Ore 16,45.* — T. 39,15. Ancora tranquillo. Respiro un po' più frequente.

*Ore 17.* — T. 39,80. Respiro frequentissimo, lingua fuori, penzoloni. Lo cavo di stufa, beve da sè, spontaneamente, un po' d'acqua.

*Ore 17,15.* — T. 39,15. Un po' diminuita la dispnea.

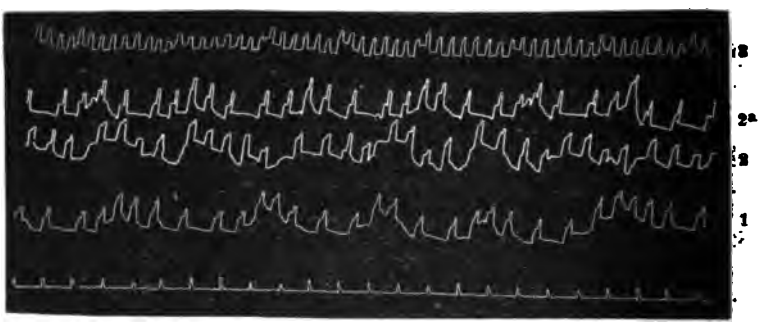



FIGURA V.

*Ore 17,55.* — T. 38,80. Pare normale, raccolgo le *grafiche 2-2a*. Si hanno all'incirca 26 pulsazioni e 6 respiri in 20″, abbastanza manifesta la rarefazione espiratoria del cuore.

*Ore 18.* — Somministro al cane 20 gr. di burro, ossia gr. 7 circa per chilogr. di cane; lo mangia avidamente e si lecca a lungo.

*Ore 19,50′.* — T. 39,05. Tranquillissimo, prendo la *grafica 3*. Il cuore è straordinariamente frequente, 52 pulsazioni e 7 respiri in 20″; scomparso ogni accenno di rarefazione espiratoria del palpito cardiaco.

*20 giugno 1901.* — Cagnetto a digiuno dal 24 maggio. Pesa kg. 2,4 e perdette circa il 35 % del proprio peso; è però sempre in buone condizioni e fa rapidamente le scale.

I tracciati che riporto danno l'intero decorso dell'esperienza.

*Ore 9,50.* — T. rettale dell'animale 37,50 C. Prendo la *grafica 1;* nella quale si contano 27 pulsazioni e 5 respiri in 30″; accentuatissima la rarefazione espiratoria dei battiti cardiaci.

*Ore 9,58.* — Lo metto in stufa.

*Ore 10,48.* — T. 40,1. (Certissimo). Lo levo di stufa, il cane è tranquillissimo, e non ha dispnea. Prendo la *grafica 2*. Sempre evidentissima la rarefazione espiratoria del cuore. 31 pulsazioni e 9 respiri in 30″.

*Ore 12.* — T. rettale ancora di 39,20. Cane calmissimo; prendo la *grafica 3.* Si contano 28 pulsazioni e 5-6 respiri in 30″.

*Ore 12,20* — Somministro al cane 20 gr. di burro, ossia gr. 8 per chilogr. di animale. Lo divora in un attimo.

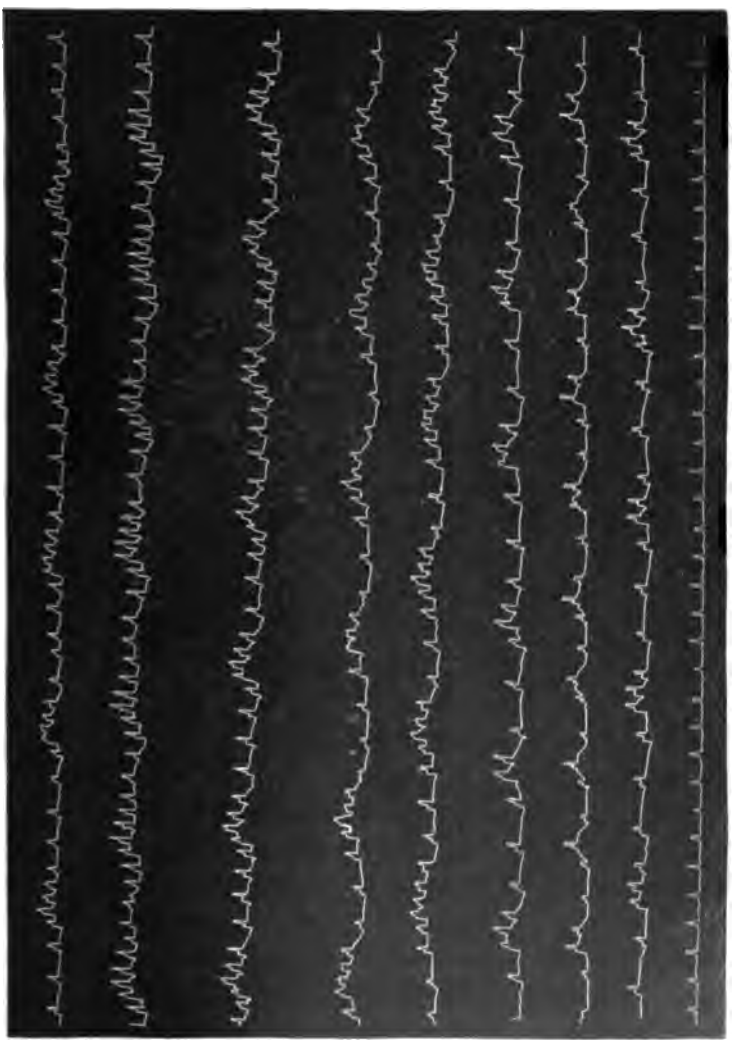



FIGURA VI.

*Ore 15,20.* — Tre ore dopo l'introduzione del grasso, raccolgo la *grafica 4.* I battiti cardiaci sono 40, i respiri 5 in 30″. Evidente la rarefazione espiratoria del cuore. T. del cane 39,00.

*Ore 16,20.* — T. 39,10. Prendo la *grafica 5.* Cuore e respiro quasi come sopra.

*Ore 16,32.* — Nuova somministrazione di 15 gr. di burro, ossia di gr. 6 per chilogr. d' animale.

*Ore 17,35.* — T 39,25. Raccolgo la *grafica 6* in cui si contano 46 pulsazioni e 6 respiri in 30″. Ancora ben manifesta l'accelerazione inspiratoria dei battiti cardiaci.

*Ore 18,40.* — T. 39. Prendo la *grafica* 7. 51 pulsazioni e 5 6 respiri in 30″; molto meno accentuato il fenomeno della rarefazione espiratoria del cuore.

*Ore 19,50.* — T. 39. Dalla *grafica 8* si vede che è di nuovo ben manifesta la rarefazione espiratoria del palpito cardiaco. 43 pulsazioni e 4-5 respiri in 30″.

Queste esperienze confermano anzitutto quanto già si disse, che il riscaldamento in stufa non fa in generale aumentare che di poco il numero dei battiti cardiaci, e che col crescere della frequenza del cuore, sale pure quella del respiro, e spesso in proporzioni più notevoli.

Da questa seconda serie di ricerche appare poi con la massima evidenza il fatto interessantissimo, che *per la somministrazione del burro aumentò straordinariamente la frequenza dei movimenti cardiaci.* In un caso si trovò più che triplicata.

Ed è tanto più importante questo risultato in quanto che la temperatura del cane non superò mai, dopo l' introduzione del materiale nutritivo, l' altezza raggiunta col riscaldamento in stufa. Invece la *frequenza del respiro subì quasi nessuna variazione, in confronto all' aumento così notevole del numero dei battiti cardiaci.*

Ed è pure degno di menzione che il risultato fu identico, quando il cane ebbe il grasso subito dopo che si portò, col riscaldamento in stufa, la sua temperatura ad un grado uguale o superiore a quello osservato più tardi dopo la somministrazione del burro. In questo caso la temperatura dell' animale si conservò quasi invariata, ma il cuore diventò straordinariamente frequente.

Questi risultati mi paiono così convincenti che io credo di potere senz' altro dichiarare infondata l' obiezione sollevatami dal collega *Barbèra*, e affermare che *l' aumento della tem-*

*peratura propria dell'animale ebbe solo una parte affatto secondaria nella accresciuta frequenza dei battiti cardiaci, che si osservò nei miei cani dopo ingestione di burro nella dose di 6-8 gr. per kgr. in peso.*

Che se ciò non si volesse ammettere come provato dalle mie esperienze, occorrerebbe pensare, come osserva giustamente il prof. *Novi*, che l'aumento di temperatura prodotto dalla stufa fosse altra cosa da quello prodotto dai grassi somministrati. Nel fatto la temperatura così originata come ha cause diverse, così deve avere diverso significato. Non si può ammettere che un aumento di calorie immagazzinate per semplice fatto fisico in un organismo, equivalga fisiologicamente ad un aumento anche uguale, ma prodottosi per fenomeni biochimici in seno all'organismo stesso. L'equivalenza fisica però esiste senza dubbio, e le molteplici ed antiche prove sull'influenza della temperatura sulla frequenza cardiaca hanno dimostrato che esiste un rapporto netto fra aumenti di temperatura e il numero dei battiti cardiaci. Se dunque nel nostro caso aumenti uguali di temperatura, prodotti in due modi tanto diversi, hanno dato risultati così differenti, non mi apparisce altra interpretazione possibile, fuori di quella da me esibita.

E per analogia mi sembra lecito di potere conchiudere, che l'aumento della temperatura del corpo deve avere avuto pure parte molto piccola nel forte aumento presentato nel numero dei movimenti cardiaci dai miei cani astinenti, dopo somministrazione di sostanze proteiche.

Pertanto l'ipotesi che le sostanze grasse e proteiche abbiano, precisamente come gli zuccheri, un'azione diretta sul cuore, riceve un valido e sicuro appoggio da queste nuove ricerche. E parmi di potere con buon fondamento generalizzare a tutti tre i gruppi più importanti delle sostanze alimentari quell'azione specifica sulla circolazione, che è oramai ammessa da tutti per gli zuccheri dopo i classici lavori dell'*Albertoni*.

* * *

Soggiunge il collega *Barbèra* « che inanizione fisiologica non equivale a condizioni normali di alimentazione. I risultati

che si ottengono negli animali digiunanti, quindi sono applicabili solo a tutti quegli animali che si trovano in queste condizioni deficienti di nutrizione e non a quelli che si alimentano normalmente. »

Egli fonda questa sua conclusione su vedute teoriche, e sui dati di fatto anatomici, e fisiologici ottenuti da *Luciani* e *Bufalini*, *Morpurgo*, *Aducco*, *Grandis*, *Monti* e da me stesso.

Io non nego certo che nel digiuno gli organi e tessuti si impiccioliscano, e che all'esame istologico si trovino modificazioni degli elementi cellulari. Solo è lecito domandarsi se queste alterazioni sono essenziali. Io ho potuto per mezzo dell'alimentazione ripristinare rapidamente nelle condizioni primitive cani digiunanti da lungo tempo (71-85 giorni), (1) e nel mio lavoro sulla termogenesi ho pure dimostrato che un cane, con temperatura abnormemente bassa per inanizione prolungata, riprende non solo celeramente la propria temperatura organica quando sia rialimentato, ma che al 4° giorno di rialimentazione la temperatura del corpo non viene già più influenzata dall'introduzione degli alimenti. Nè dobbiamo dimenticare che vi sono malattie a decorso lungo, febbrile, come il tifo, nelle quali « molti sono capaci di sostenere un consumo giornaliero abnormemente accresciuto dal processo febbrile, e appena compensato in minima parte da poco brodo di carne, che per la scarsità dei principî alimentari che contiene, è più un eccitante che un alimento efficace e sufficiente. » (2)

Ciò nondimeno nella convalescenza, spesso rapida, l'organismo ritorna alla norma; il che male si accorda con un'alterazione anatomica grave, essenziale degli elementi cellulari.

E queste alterazioni, negli animali sani, robusti, messi a digiuno, dovranno ridursi quasi esclusivamente a fatti atrofici.

Questo appare dal reperto necroscopico che *Luciani* e *Bu-*

---

(1) A. Pugliese, *Azione del cloruro di sodio e di potassio sul decorso della inanizione.* (Atti della R. Accad. dei Fisiocritici, serie IV, Vol. VII, e Arch. Ital. de Biolog., Vol. XXVI, pag. 345, 1896).

(2) Luciani, *Fisiologia del digiuno.* (Firenze, Successori Le Monnier, 1889, pag. 151).

*falini* (1) danno della loro cagna giunta al 45° giorno di digiuno, e dalle ricerche di *Morpurgo* e *Gusmitta*. Il primo (2) studiò accuratamente l'inanizione acuta nei piccioni, e trovò che l'atrofia semplice degli elementi specifici del rene, fegato, pancreas e dei muscoli è molto considerevole, tale sovente da spiegare intieramente la perdita in peso degli organi. Vide inoltre che i nuclei delle cellule non prendono che una parte secondaria a questa atrofia.

*Gusmitta* (3) osservò, alla sua volta, che il tessuto osseo diminuisce assolutamente, ma rimane in perfetto equilibrio coi suoi componenti; e l'esame istologico gli dimostrò che il tessuto osseo non si altera molto istologicamente, non trovandosi che segni di diminuita nutrizione.

Riguardo al sistema nervoso centrale, *Peri* (4) trovò che il sistema nervoso degli animali morti per digiuno non differisce molto da quello degli animali nutriti: *Monti* (5) vide che i primi ad essere colpiti sono i prolungamenti protoplasmatici, i quali si mostrano in preda ad un processo di atrofia varicosa, mentre il prolungamento nervoso con tutte le sue divisioni rimane inalterato. Negli animali che hanno digiunato più a lungo le alterazioni si fanno più estese, procedendo dalla periferia al centro, e solo quando è invaso il corpo cellulare, si ha l'inedia patologica del *Luciani*, e quindi la morte dell'animale: *Lugaro* e *Chiozzi* (6) conchiusero che le alterazioni del sistema nervoso non sono precoci, e per lungo tempo gli elementi cellulari si mantengono integri, o presentano lievi modificazioni della parte cromatica, indubbiamente

---

(1) Luciani e Bufalini, *Sul decorso dell' inanizione.* (Archivio per le scienze mediche, Vol. V).

(2) Morpurgo, *Sur la nature des atrophies par inanition.* (Archiv. Ital. de Biologie, Vol. 12, 1889).

(3) Gusmitta, *Sur les alterations des os produites par l'inanition.* (Archiv. italien de Biologie, Vol. 19, 1893).

(4) Peri, *Sulle alterazioni del sistema nervoso centrale e periferico indotte dalla inanizione acuta.* (Lo Sperimentale, anno XLVI, 1892).

(5) Monti, *Sulle alterazioni del sistema nervoso nell' inanizione.* (Riforma medica, agosto 1895, e Arch. italien de Biologie, Vol. 24, 1895).

(6) Lugaro e Chiozzi, *Sulle alterazioni degli elementi nervosi nell' inanizione.* (Rivista di patologia nervosa e mentale, fasc. 9, 1897).

riparabili; solo nei giorni che precedono la morte si aggravano ed interessano la parte cromatica del protoplasma ed il nucleo: *L. Daddi* (1) rilevò pure che le alterazioni del sistema nervoso nell'inanizione non sono molto gravi, perchè limitate ad un numero non molto grande di elementi, ed avvengono solo negli ultimi periodi di essa; e affatto recentemente *Martinotti* e *Tirelli* (2) applicando la microfotografia allo studio della struttura delle cellule dei gangli spinali nell'inanizione, notarono che, di regola, non si ha alcuna modificazione sensibile nella struttura di dette cellule.

*Barbèra* e *Bicci* (3) rivolsero la loro attenzione agli elementi delle capsule soprarenali, e osservarono che per la privazione completa degli alimenti, tanto la sostanza protoplasmatica che il nucleo delle cellule delle capsule surrenali del cane e del coniglio si riducono di volume, ma molto più il protoplasma che il nucleo.

Senza volere dilungarci a riferire altri risultati di ricerche sperimentali, possiamo perciò affermare che nell'inanizione il sistema nervoso non presenta alterazioni gravi, e che per gli altri organi e tessuti si tratta sopratutto di un processo involutivo, che invade specialmente la parte protoplasmatica della cellula, mentre la parte nucleare, a cui è legata tanta parte della vita cellulare, si riduce molto meno. Abbiamo visto d'altra parte che cani digiunanti da lungo tempo possono ritornare rapidamente alle condizioni primitive di nutrizione per mezzo della rialimentazione. Adunque tanto la ricerca istologica che quella sperimentale dimostrano che l'intima struttura della cellula non soffre nel digiuno, anche prolungato, alterazioni essenziali.

---

(1) L. Daddi, *Sulle alterazioni del sistema nervoso centrale nell'inanizione.* (Rivista di patologia nervosa e mentale, Vol. III, fasc. 7, 1898).

(2) Martinotti e Tirelli, *La microphotografie appliquée à l'étude de la structure de la cellule des ganglions spinaux dans l'inanition.* (Archiv. italien de Biologie., Vol. XXXV, fasc. 3, 1901).

(3) Barbèra e Bicci, *Contributo alla conoscenza delle modificazioni che il digiuno apporta negli elementi anatomici dei vari organi e tessuti della economia animale.* Capsule surrenali. (Bullettino delle Scienze mediche di Bologna, Serie VII, Vol. XI, 1900).

E invero noi vediamo affievolirsi nell'inanizione tutte le funzioni; cuore e respiro, funzioni motorie e nervose si rallentano, processi secretori ed escretori, di ossidazione e sintesi, diventano molto meno intensi e possono in parte anche mancare. Ma queste modificazioni sono puramente quantitative e non già qualitative, e collimano tutte a risparmiare il consumo dell'organismo, a tenere nei più ristretti limiti possibili colla vita le funzioni organiche più importanti. (1) Però queste funzioni quantunque meno vivaci, potranno pur sempre reagire a determinati agenti, anzi, come ha dimostrato il prof. *Aducco* (2), l'azione di molte sostanze tossiche è più potente nel digiuno, e tanto più quanto più è avanzato il periodo di digiuno, appunto perchè gli elementi dei tessuti sono più deboli.

Potranno inoltre manifestarsi nel digiuno certe reazioni, che in condizioni normali di nutrizione non si possono rilevare per la lunga consuetudine dell'organismo a determinati stimoli. Così zuccheri, grassi, sostanze proteiche circolano senz'interruzione e in gran quantità per l'organismo, i prodotti delle loro trasformazioni chimiche fanno sentire incessantemente la loro azione, e perciò gli elementi degli organi e tessuti si devono assuefare a questi stimoli, che nelle condizioni normali di vita sfuggono alla nostra osservazione. Solo gli zuccheri, che per esperienze concordi di molti autori hanno azione potente sui muscoli, e sono oramai considerati come la fonte principale del lavoro muscolare, possono, se ingerite in quantità superiore alla norma, rendere manifesta la loro azione sul cuore, anche in animali ben nutriti; ma i grassi e gli albumi-

---

(1) Mi compiaccio vivamente che queste vedute teoriche, le quali trovano la loro base nei risultati delle ricerche sull'inanizione, abbiano avuto di recente una splendida conferma per opera stessa del *Barbèra*. Questi nel suo recente e ottimo contributo sperimentale alla fisiologia del digiuno (Bullettino delle Scienze Mediche di Bologna, Serie VIII, vol. II, 1902), conchiude che « *la differenza tra lo stato di inanizione e quello della normale alimentazione e normale nutrizione dei tessuti dell'organismo è solo quantitativa e non qualitativa.*

(2) Aducco, *Influenza del digiuno sopra l'intensità di azione di alcune sostanze tossiche.* (Atti della R. Accademia dei Fisiocratici, Serie V, Vol. V, anno 1894).

noidi, che posseggono in alto grado proprietà calorifiche gli uni, istogenetiche gli altri, non possono mostrare in modo sensibile la loro azione sulla circolazione, che pur posseggono, sebbene in proporzioni minori, in comune cogli zuccheri.

Bisogna disabituare l'organismo, perchè gli effetti dei grassi, delle sostanze proteiche, e in gran parte anche degli zuccheri, sul cuore diventino manifesti. Succede qua come per molte sostanze medicamentose che non manifestano più, o quasi, la loro azione specifica sull'organismo, quando siano somministrate a lungo.

Si potrebbe obbiettare che anche la luce è uno stimolo fisiologico, continuo; ma che basta portare l'animale al buio per aversi subito una diminuzione notevole delle attività organiche. Ma oltre che noi priviamo in questo modo *repentinamente* e *completamente* l'animale dello stimolo luminoso, non si può passare sotto silenzio che le radiazioni luminose posseggono per la loro trasmissione la pelle, i nervi sensibili, e un organo apposito, perfettissimo, com'è l'occhio. Invece le sostanze alimentari hanno, con ogni verosimiglianza, un'azione sopratutto locale sugli elementi dei tessuti; e l'organismo, anche se digiunante, non si spoglia mai completamente del materiale nutritizio. Secondo *Erwin Voit* (1) la quantità di grasso circolante diminuisce nel digiuno con somma lentezza, e non scompare mai completamente. Pertanto non è possibile che un digiuno di 36 ore possa impoverire a sufficienza l'organismo dei grassi e proteine circolanti, come suppone *Barbèra*. È solo in un periodo molto più avanzato dell'inanizione, che la quantità di dette sostanze circolante col sangue sarà così piccola che l'animale sarà in grado di risentire gli effetti dei grassi e corpi proteici, introdotti a scopo sperimentale. Si aggiunga, che, come dimostrò il *Luciani* nel Succi e *Senator* nel Cetti (2), nel digiuno si accresce l'irritabilità del cuore, il quale perciò reagirà più intensamente agli stimoli che gli giungono coi

---

(1) Erwin Voit, *Die Bedeutung des Körperfettes für die Eiweisszersetzung des hungernden Tieres.* (Zeitschrift fur Biologie, Bd. XLI, 1901, pag. 502).

(2) Luciani, Lavoro citato, pag. 31.

prodotti delle trasformazioni chimiche delle sostanze somministrate.

L'inanizione rappresenta adunque in questo caso un vero mezzo di esperimento, e noi vediamo appunto rendersi molto più manifesta l'azione degli zuccheri, e presentare effetti identici i grassi e i corpi proteici.

Non è sempre possibile sperimentare in condizioni nettamente fisiologiche, anzi è nello sforzo di riportare l'organismo al normale, che molte volte si possono mettere in luce fatti importantissimi, che altrimenti passerebbero inosservati. Si può affermare che la maggior parte delle ricerche di Fisiologia e Farmacologia si svolgono in condizioni che sono ben lungi da quelle abituali degli animali su cui si esperimenta. Fissazione dell'animale sul tavolo di contenzione, narcosi, vivisezione ecc., non sono certo stati normali dell'animale! Eppure tutte le più belle conquiste della fisiologia sperimentale furono ottenute, applicando su larga scala questi metodi, che certo collocano gli animali d'esperimento in condizioni ben diverse da quelle abituali! Giustamente osserva il *Sabbatani* che come il fisiologo per studiare un organo ne esagera la funzione con stimoli varii, o ne sopprime la funzione asportando l'organo, così per la chimica biologica è sperabile di potere mettere in evidenza la funzione di una sostanza esagerandone il contenuto o sottraendola in qualche modo dall'organismo [1]. Aumentare sensibilmente la quantità di grassi, proteine e idrati di carbonio circolanti non è possibile, perchè il ricambio organico ha un limite che non si può superare, possiamo, invece, diminuirla notevolmente per mezzo dell'inanizione. A questa sottrazione fa seguito, come si è visto, un forte rallentamento della frequenza del cuore; ma quando si ridà l'alimento a cani immiseriti da lungo digiuno, non solo scompare questo rallentamento, ma cresce straordinariamente il numero dei battiti cardiaci, anche perchè i prodotti di trasformazione del materiale nutritivo si trovano ad agire su un cuore dotato di molta maggiore irritabilità.

[1] SABBATANI, *Funzione biologica del calcio.* (Memorie della R. Accademia delle Scienze di Torino, Serie II, Vol. LI. 1901, pag. 267).

* * *

Quando comunicai alla Società Medica di Bologna i risultati di queste nuove ricerche, mi si osservò dal Prof. *Albertoni* e dal Collega *Silvagni*, che non si poteva escludere in modo assoluto che l'acceleramento dei battiti cardiaci non potesse dipendere, almeno in parte, dal lavoro digestivo.

Ho ripetuto perciò le esperienze, dando la sostanza alimentare per la via sottocutanea, anzichè per quella del tubo digerente (1).

Ho anzitutto cercato, se iniettando sotto cute un liquido indifferente, in quantità uguale o superiore a quello d'esperimento, si ottenevano modificazioni nella funzione circolatoria e respiratoria e nella termogenesi.

*11 Luglio.* — Cane robustissimo, a digiuno dall'11 giugno, perdette circa il 30 % in peso.

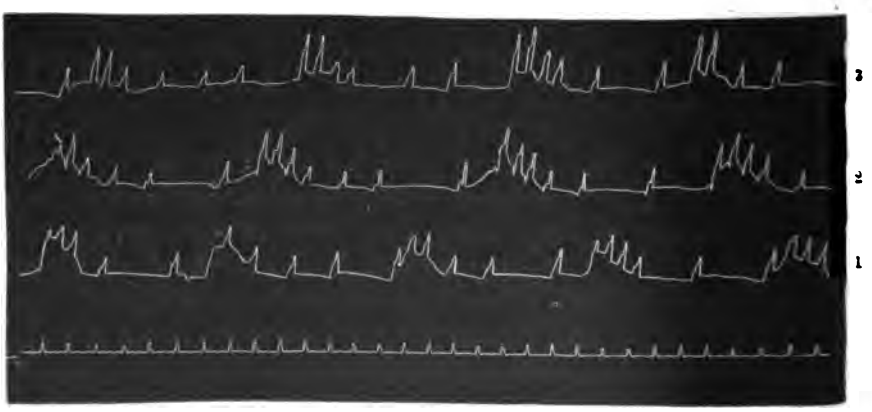



FIGURA VII.

*Ore 11.* — T. 38,10. Si prende il tracciato 1, nel quale si hanno 22 pulsazioni e 4 respiri in 30″.

(1) Sull'alimentazione sottocutanea possediamo una ricca letteratura che non credo qui il luogo di riferire. Essa è stata ampiamente riassunta dal dott. *Corradi* nel suo lavoro *L'alimentazione sottocutanea*. (Archivio di Medicina interna, Vol. I pag. pag. 92, 1898).

*Ore 11,15.* — Iniezione sottocutanea di 100 cm³ di soluzione fisiologica di cloruro di sodio.

*Ore 12.* — T. 38,60. Raccolgo la grafica 2 che è identica alla precedente.

*Ore 14.* — 30,40. Raccolgo la grafica 3 che non si differenzia affatto dalle precedenti.

Non ho riportato le altre curve perchè non presentano alcuna particolarità, come pure la temperatura rettale oscillò sempre fra 38,10 e 38,40 C. Possiamo perciò affermare che l' *iniezione sotto cute d'un liquido indifferente non modifica nè la frequenza del cuore nè quella del respiro.*

Riguardo poi alla sostanza alimentare da iniettare, ho rivolto la mia attenzione avanti tutto all'olio di oliva, che secondo le ricerche cliniche si assorbirebbe facilmente nell'uomo, anche per la via sottocutanea. Con mia meraviglia ho visto in cani, in buone condizioni malgrado il periodo inoltrato dell'astinenza, che l'olio introdotto sotto cute, alla dose di 3, 4 gr. per Kilogr. d'animale, non era quasi assorbito, 60, 80 ore dopo l' iniezione. E col mancato assorbimento fece difetto ogni modificazione respiratoria, circolatoria e della temperatura. Nè si può fare dipendere questo risultato dall'essere i cani in inanizione, poichè *Barbèra* trovò, contemporaneamente a me, il fatto identico in cani in ottime condizioni di nutrizione (¹).

Ho dovuto perciò iniettare o sostanze facilmente solubili e sterilizzabili come il glucosio, o già sciolte, ma fornite d'un alto potere alimentare, come il latte. L'azione degli zuccheri sulla circolazione è nota, però dall'intensità degli effetti ottenuti, si poteva giudicare delle modificazioni che dette sostanze sono in grado di produrre sul cuore, e eventualmente sul respiro e sulla temperatura.

*19 Luglio.* — Cane del peso di kg. 8,5 a digiuno da 28 giorni. Perdette in peso il 29 % circa. Sale rapidamente le scale.

---

(¹) A. Barbèra, *Alimentazione sottocutanea e formazione della bile.* (Bullettino delle Scienze mediche di Bologna, Serie VIII, Vol. 1, pag. 578, 1901), e volume pubblicato dai discepoli in onore del Prof. Pietro Albertoni nel suo XXV anniversario cattedratico, pag. 565, 1901.

*Ore 10,30.* — T. 37,50. Nella grafica 1 della figura si contano 33 polsi e 6 respiri in 30″.

*Ore 10,55.* — Inietto sotto cute 16 gr. di glucosio sciolti in 30 cm³ di acqua stillata bollita e sterilizzata.

*Ore 12,20.* — T. 37,80 (grafica 2). Cuore straordinariamente frequente, 92 pulsazioni in 30″; il numero degli atti respiratorii non appare chiaramente dal tracciato, era però molto aumentato. Scomparso il fenomeno della rarefazione espiratoria del palpito cardiaco.

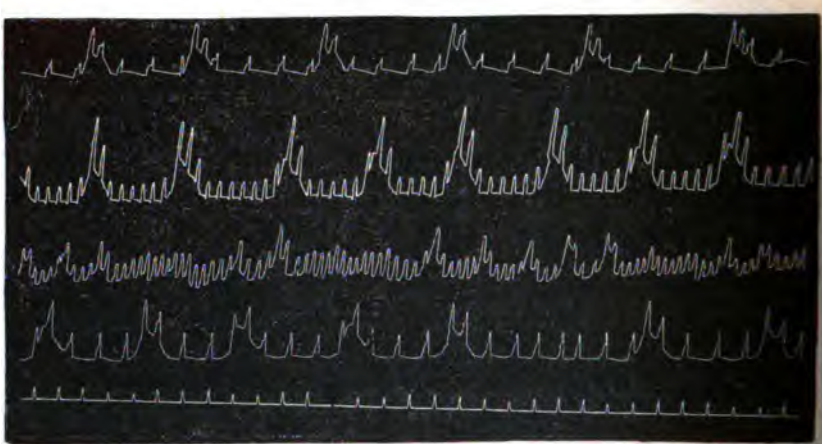


FIGURA VIII.

*Ore 14,50.* — T. 38, Cuore meno frequente, 66 pulsazioni e 8-9 respiri in 30″ (grafica 3).

*Ore 18,45.* — 37,70, cuore e respiro nelle identiche condizioni di stamane prima dell'iniezione; 34 pulsazioni e 6 respiri in 30″ (grafica 4).

Adunque l'introduzione sotto cute di 2 gr. di glucosio, per Kilogr. di cane, *mentre fece salire di poco la temperatura del corpo, generò invece un'acceleramento straordinario del cuore e del respiro.*

*27 Luglio 1901.* — Cane a digiuno dal 26 luglio, perdette in peso circa il 32 %. Pesa kg. 10,1 ed è in buone condizioni.

*10,45.* — T. 37,60. Polsi 21, resp. 3 con 30″ (grafica 1 della figura IX).

*Ore 11.* — Iniezione sottocutanea di 90 cm³ di latte di vacca; sterilizzato.

*Ore 12.* — T. 38,20. Cuore un po' più frequente; 26 pulsazioni e 3 respiri in 30″ (grafica 2).

*Ore 14,58.* — **T. 39,20. Accresciuta molto la frequenza del cuore e del respiro; 66 pulsazioni e 7 respiri in 30″, appena accennata la rarefazione espiratoria del palpito cardiaco (grafica 3).**

*Ore 15.* — **T. 39,60.**

*Ore 16.* — **T. 39,60. 82 pulsazioni e 9 respiri in 30″, nessun accenno di rarefazione espiratoria del cuore (grafica 4).**

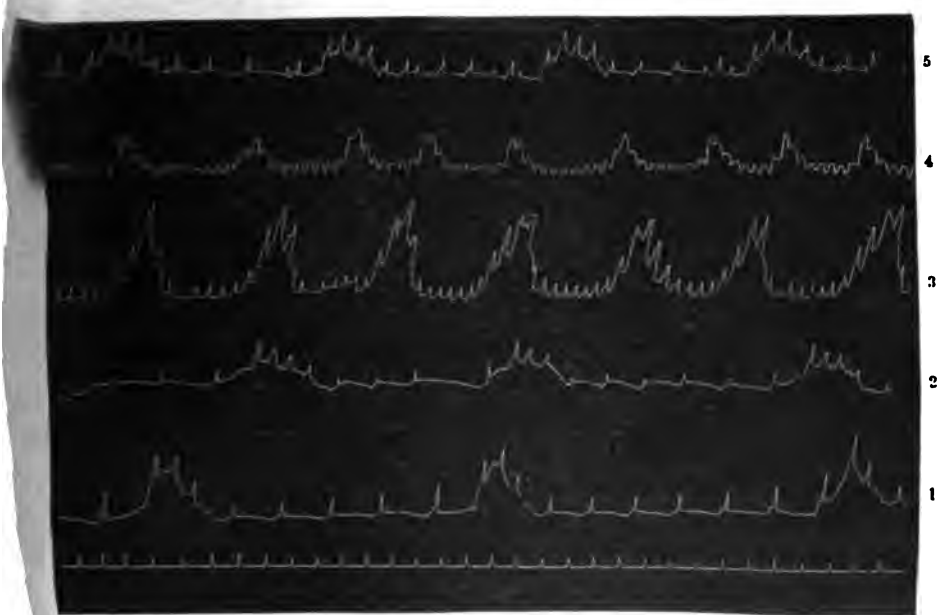



FIGURA IX.

Il mattino seguente, alle ore 11, il cane aveva ancora una temperatura di 38,30; il respiro era quasi tornato alla frequenza normale, ma il cuore era ancora frequente. Ricomparsa la rarefazione espiratoria del palpito cardiaco (grafica 5).

Finita l'esperienza sacrificai l'animale e trovai nel luogo dell'iniezione solo un po' di sostanza biancastra, dell'apparenza di latte coagulato, il che sta ad indicare che il liquido iniettato fu assorbito per la massima parte. Adunque anche l'introduzione sottocutanea di un cibo completo come il latte, dà *un aumento straordinario della frequenza del cuore, però si accresce notevolmente anche il numero degli atti respiratori.* Non avendo somministrato con 90 cm³ di latte che gr. 4,185 di zucchero, è

molto verosimile, per non dire certo, che gli effetti ottenuti siano da attribuirsi alle varie sostanze organiche del latte e non al solo zucchero iniettato col latte, tanto più che l'*Albertoni* dimostrò, ed io ho riconfermato, che lo zucchero di latte, iniettato direttamente in circolo, esercita sul sistema circolatorio un'azione che è in parte identica e in parte opposta a quella del glucosio, maltosio e saccarosio, cioè fa crescere la pressione sanguigna e dilatare i vasi, ma la frequenza del cuore diminuisce invece di aumentare.

Se è forse possibile invocare nell'esperienza con latte, il forte aumento della temperatura organica (da 37,60 a 39,60) per spiegare le modificazioni circolatorie e respiratorie, questo non è più assolutamente possibile per l'esperienza con glucosio, nella quale fu pure marcatissimo, benchè meno duraturo, l'aumento nella frequenza degli atti respiratorii e dei battiti cardiaci, quantunque la temperatura del cane non si fosse innalzata che di 0,5 centigradi.

Con ogni verosimiglianza il glucosio e il latte iniettato sotto cute passarono rapidamente in circolo, il sangue si trovò a contenere in quantità rilevante un materiale che, per essere sfuggito all'azione dei succhi digerenti, dovette essere assai poco elaborato, e uno stimolo abnorme venne così ad agire sul sistema nervoso. L'acceleramento del respiro starebbe quindi ad indicare una modificata eccitabilità bulbare, e perciò del centro respiratorio: Sotto l'influenza delle sostanze alimentari, anche se introdotte per la via normale, fisiologica del tubo digerente, si attenua fino a scomparire, nei cani digiunanti, la tonicità del centro bulbare cardio-inibitore; per la somministrazione sottocutanea di queste sostanze, gli effetti sarebbero più intensi per le ragioni accennate, e verrebbe modificata anche la funzione del centro respiratorio, e forse di tutti i centri bulbari.

Non si può però escludere a priori che le sostanze alimentari arrivate in circolo in poco tempo, senza avere subìto prima il lavorio degli organi digerenti, abbiano soggiaciuto ad una rapida tumultuosa combustione, da cui sarebbero derivate passeggiere, ma pure profonde modificazioni dello scam-

bio respiratorio e della frequenza respiratoria. E sarebbe certo non senza interesse lo studiare il comportarsi dello scambio e del ritmo respiratorio e dei gaz del sangue in animali normali e in inanizione, sotto l'introduzione degli alimenti per vie diverse, (della bocca, della cute, delle vene, del peritoneo).

Comunque, ciò che qui importa sopratutto si è, che i risultati conseguiti con l'introduzione dell'alimento per la via sottocutanea, comprovano sempre più come le sostanze alimentari somministrate per bocca soggiacciano al lavoro proficuo degli organi e succhi digerenti, e giungano a poco a poco ed elaborate in circolo, dove possono spiegare la loro azione elettiva sulla circolazione. Introdotte per altra via, entreranno rapidamente, e in gran parte inalterate, nel sangue, generando fenomeni molto più complessi, parte dei quali di pertinenza certo della sfera nervosa. E probabilmente l'iniezione sottocutanea di zucchero, o latte, o altra sostanza alimentare atta ad essere assorbita, produrrà anche nei cani nutriti, per le ragioni esposte, modificazioni circolatorie e respiratorie molto simili a quelle che io ho visto nei cani esinaniti. Ma di questa questione si sta appunto occupando il Prof. Albertoni, con competenza di gran lunga superiore alla mia.

Bologna, nel Dicembre 1901.

Istituto Farmacologico della R. Università di Sassari
diretto dal Prof. Giusto Coronedi.

# CONTRIBUTO ALLO STUDIO BIOLOGICO DEL VANADIO

## IN RAPPORTO AGLI ELEMENTI PIÙ NOTI DEL V° GRUPPO.

### MEMORIA I^a

DEL

DOTT. RICCARDO LUZZATTO
Assistente.

Il V° gruppo della classificazione del *Mendelejeff* ha acquistato e va acquistando un'importanza biologica sempre maggiore, contenendo degli elementi che rappresentano non solo agenti farmacologici interessantissimi, ma anche componenti normali dell'organismo. Voglio alludere all'arsenico e specialmente al fosforo.

Il vanadio, che assieme all'arsenico, al fosforo, all'antimonio ed al bismuto entra a far parte del V° gruppo della classificazione del *Mendelejeff*, fu scoperto già nel 1801 (1), ma a differenza dei precedenti, non fu per molti anni oggetto di alcuna ricerca biologica. Solo da poco la letteratura del vanadio andò arricchendosi notevolmente anche dal punto di vista biologico, e fu perfino trovato che questo elemento entrava a far parte della composizione chimica di alcuni organismi vegetali (2).

Le prime ricerche farmacologiche su tale elemento datano dal 1875, quando cioè degli autori inglesi, il *Gamgee* ed il *Priestley* (3) studiando l'acido ortovanadico, notarono che la sua tossicità era molto affine a quella dell'antimonio e dell'arsenico. Le loro ricerche furono confermate da *Platt* (4), *Gamgee*

e *Larmouth* (5) e da *Larmouth* (6). Secondo questi autori le combinazioni sodiche dell'acido meta- e pirovanadico agiscono sul midollo spinale ed allungato paralizzando le funzioni reflesse di questi centri, e sul cuore con un meccanismo d'azione affine a quello della digitale. La respirazione si accelera, poi si rallenta ed infine si sospende. All'autopsia si osserva gastro-enterite od almeno forte iperemia del tubo gastro-enterico. Nelle rane il cuore si trova fortemente contratto. La dose letale oscilla, secondo essi, da 9 a 14 milligrammi per kg. di peso corporeo.

Il *Priestley* (7) in una sua ultima relazione dimostrò una triplice influenza del vanadio sulla circolazione negli animali a sangue caldo, consistente in una diminuzione della pressione sanguigna con intermittente tendenza a salire fino alla norma; più tardi in una oscillazione delle curve respiratorie e finalmente in una irregolarità e diminuzione delle pulsazioni indipendentemente dalle modificazioni della pressione sanguigna.

Il *Binz* (8) nel suo classico trattato di Farmacologia Sperimentale, dice che è straordinariamente interessante il riscontro del vanadio con l'arsenico e che la rassomiglianza si trova nei punti seguenti: « L'acido vanadico è debolmente antiputrido, ha azione paralizzante sui centri del cuore, della respirazione, del movimento e della coscienza, produce congestione ed infiammazione nel tubo digerente, non importa da qual parte l'organismo l'abbia assorbito. I gradi più bassi dell'ossidazione del vanadio si ossidano molto facilmente a spese delle molecole vicine contenenti ossigeno; i più alti cedono altrettanto facilmente ossigeno ai corpi riduttori ».

Il *Coronedi* (9) nel 1896 studiò l'analogia chimica e fisiologica tra il tartrato antimonioso potassico (emetico di Sb.) ed il tartrato vanadoso potassico (emetico di V.), e trovò che vi sono delle differenze che consistono non tanto nella natura quanto nel grado d'intensità del fenomeno (emesi).

Gli ulteriori studî sul vanadio si devono ad autori francesi, i quali però si sono occupati dell'argomento prevalentemente dal punto di vista terapeutico.

Il *Laran* (10) intraprese fino dal 1896 una serie di ricerche

sull'acido vanadico. Questo corpo, dice l'autore, ha delle proprietà chimiche interessanti che *Witz* ha messo in luce. L'acido vanadico in presenza d'una materia organica e d'un corpo ossidante abbandona un atomo d'ossigeno alla materia organica; riprende in seguito un atomo d'ossigeno al corpo ossidante per rigenerarsi, e questo fenomeno si rinnuova finchè il corpo ossidante non ha più ossigeno.

Riguardo poi alla tossicità, notò che la dose mortale corrisponde circa a un centigrammo per kg. di peso corporeo, esperimentando con una soluzione di vanadato sodico od ammonico. Se si danno dosi deboli, alcuni milligrammi per giorno, a conigli, gatti ecc., si produce la degenerazione grassa del fegato e qualche volta del cuore. (L'autore accenna a quest'ultimo fatto senza dire però con quali mezzi d'indagine ha potuto assicurarsene). In seguito l'animale dimagra, ha diarrea e muore. Gli erbivori sono meno sensibili dei carnivori all'azione del veleno. Negli avvelenamenti cronici i risultati sono presso a poco eguali; ma se invece si danno dosi infinitamente piccole, in luogo di dimagramento si ha ingrassamento, invece della perdita, l'aumento dell'appetito e l'animale non muore. Se invece si inietta ad un coniglio una soluzione d'acido vanadico direttamente in una vena dell'orecchio, si ottiene la morte prima di raggiungere un centigrammo per kg. di peso corporeo. Quando l'iniezione si fa nel tessuto cellulare sottocutaneo si può iniettare più del doppio della dose precedente senza produrre la morte. Quando questa avviene, la respirazione si arresta prima del cuore. La temperatura si abbassa lentamente, ma invariabilmente, quando si fanno iniezioni sull'animale immobilizzato.

*Hallion* e *Laran* (11) studiarono gli effetti cardiovascolari dei composti di vanadio e trovarono che per l'uso continuato di dosi crescenti di metavanadato sodico, si ha vaso-costrizione che è seguita poi da vaso-dilatazione. Da principio si osserva pure un aumento della forza del cuore e poi una diminuzione dovuta ad azione nervosa e muscolare, cioè in parte a stimolazione dei centri del vago, in parte a paralisi del miocardio. Perciò la pressione arteriosa dopo una fase di aumento, subi-

sce una progressiva diminuzione. Se invece si cessa di somministrare il veleno subito dopo, o quasi, il periodo di vasocostrizione, con aumento della pressione stessa, si vede questa ultima innalzarsi ancora e superare di molto il livello iniziale, mentre cessa la rarefazione del polso.

Gli autori consigliano prudenza nelle applicazioni mediche del vanadio, ma credono che potrebbe esser utile in certi casi di ipotensione arteriosa.

*Lyonnet*, *Martz* e *Martin* (12) in una comunicazione sull'impiego terapeutico dei sali di vanadio, trovarono che il vanadato acido di soda è meno velenoso del corrispondente arseniato e che nel coniglio, per via endovenosa, uccide nelle proporzioni di 0,017 per kg. di peso corporeo. Dopo morte si trova iperemia del fegato e della milza e sangue rosso nel ventricolo sinistro. Il sangue non mostra alterazioni nè microscopiche nè spettroscopiche. Per via gastrica, due decigrammi sono mortali dopo circa 12 ore. Si hanno disturbi respiratorî, diarree sierose e notevole abbassamento della temperatura. Per ripetute dosi non mortali si ha dimagramento progressivo e finalmente morte. Secondo questi autori il metavanadato sodico in dosi terapeutiche non ha influenza nè sulla ptialina, nè sulla pepsina. L'azione del lievito di birra non è influenzata da una soluzione all' 1 $^{0}/_{00}$. L'azione antisettica, da ricerche fatte col bacillo dell'antrace e con quello del tifo, è assai debole. Tuttavia questi sali, per la loro azione ossidante possono influire in grado più intenso sui bacilli anaerobii. Confermano il fatto notato da *Laran* (10) che l'uso continuato di piccole dosi determina un aumento del peso corporeo, e credono che i preparati di vanadio possano essere indicati in tutti quei casi in cui vi è rallentamento del ricambio materiale e deficienza nei processi d'ossidazione (tubercolosi, clorosi, reumatismo articolare acuto e cronico). In alcuni di questi casi il peso corporeo dei pazienti aumentò di 2-3 chilogr. in 13-14 giorni.

I precedenti autori assieme al *Guinard* confermarono in un altro lavoro questi fatti (13).

Secondo *Weber* (14) i sali di vanadio possono agire favorevolmente anche nella gotta e nell'adiposi.

Si pronunciarono pure in senso favorevole, specialmente riguardo alla tubercolosi, *Delarue* (15), *Hélouis* e *Delarue* (16), *Laran* (17) il quale in un recente suo lavoro (18) pubblicò anche un caso di guarigione di osteo-artrite tubercolare con applicazioni locali d'acido vanadico.

Il *Berthail* (19) che studiò diversi composti di vanadio (vanadato sodico, di ferro, di litina, fosfovanadato sodico) in 140 casi (tubercolosi, anemici, nevrastenici, affetti da reumatismo, da neoplasmi, da leucocitemia, diabete, affezioni cutanee) si crede autorizzato a concludere che:

I° I derivati di vanadio hanno avuto in tre quarti dei casi un'azione favorevole.

II° Quest'azione favorevole consiste in un aumento spesso notevole dell'appetito, delle forze e del peso corporeo.

III° L'urea ed il coefficiente di ossidazione, in quasi tutti i casi in cui le orine furono esaminate, erano aumentati.

IV° Non furono osservati fenomeni d'intolleranza, tolti in due casi in cui apparve leggiera diarrea che poi cessò rapidamente senza bisogno di sospendere la cura. Crede perciò che il vanadio, in causa probabilmente del suo potere ossidante energico, abbia una notevole azione eccitante sull'organismo.

Nel complesso quindi tutti gli autori sono d'accordo sull'utilità delle applicazioni terapeutiche del vanadio. Discordano invece un po' tra loro per quanto riguarda il coefficiente di tossicità dei sali di vanadio, il quale coefficiente, secondo *Lyonnet*, *Martz* ecc. (12) è molto inferiore di quanto affermano *Laran* e *Hallion* (20), secondo i quali ultimi, i precedenti autori avrebbero adoperato prodotti impuri.

Per *Kobert* (21) la dose mortale per iniezione sottocutanea (di vanadato o metavanadato di soda e d'ammonio) oscilla da 9 a 14 milligrammi per Kg. di peso corporeo.

* * *

Da questo rapidissimo sguardo ai lavori che io ho potuto trovare sul vanadio, su alcuno dei quali dovrò ritornare nel seguito di questa mia nota, risulta che il vanadio, elemento

fino a pochi anni fa d'interesse esclusivamente chimico, va ora acquistando sempre maggior importanza non solo dal punto di vista biologico, ma anche terapeutico.

Il prof. *Coronedi*, che si occupa da lungo tempo di tale elemento, mi consigliò di studiarlo sotto la sua direzione, approfittando di due sali, il *tricloruro di vanadio*

$$VCl_3 + 6H_2O$$

ed il *tribromuro di vanadio*

$$VBr_3 + 6H_2O$$

ch'egli deve alla cortesia del Prof. *Piccini* dell'Istituto di studî superiori di Firenze, il quale lo ha studiato recentemente dal punto di vista chimico (22)

Argomento di questa memoria è lo studio anatomo-patologico relativo al vanadio, studio che credo molto utile perchè:

I° Non è stato ancora compiuto. Infatti le prime ricerche anatomo-patologiche, per quanto io sappia, sono state da me comunicate quest'anno all'Associazione medico fisica sassarese (23).

II° Le analogie chimiche che avvicinano il vanadio agli altri elementi del V° gruppo, elementi che, come l'arsenico ed il fosforo, determinano un quadro anatomo-patologico ben definito, invitano a pensare che anche il vanadio possa determinare delle alterazioni morfologiche, quando venga introdotto nell'organismo.

III° Se tali lesioni avvengono, la loro conoscenza potrà portare un notevole contributo allo studio farmacologico del vanadio, nel senso di poter determinare esattamente la sua posizione biologica rispetto ad altri elementi del V° gruppo.

Le ricerche che sono soggetto della presente memoria costituiscono un capitolo fondamentale di uno studio sul vanadio, biologico e terapeutico completo, che presto verrà da noi pubblicato.

* * *

È naturale che in questa memoria la quale, come ho detto, ha uno scopo circoscritto e determinato, io riferisca dello stu-

dio farmacologico, già da noi in gran parte eseguito, solo quel tanto che può essere indispensabile all' intelligenza dei fatti che sto per esporre.

Gli animali che ho adoperato per le mie ricerche sono stati principalmente i conigli, ma ho sperimentato anche sui carnivori (gatto) e sugli animali a sangue freddo (Bufo viridis, Discoglossus pictus).

Posso affermare in generale che i sali di vanadio da me adoperati, si mostrarono meno tossici dei preparati d' arsenico adoperati fin qui e sopratutto di quelli di fosforo. Devo notare un fatto che avvicina il vanadio all' arsenico, consistente in una tendenza degli animali ad abituarsi al vanadio quando si pratichino degli avvelenamenti cronici incominciando con dosi molto piccole.

Così ad es. mentre in un coniglio del peso di grammi 1000, una prima iniezione di due centigrammi di tricloruro o di tribromuro di vanadio, riesce letale, la stessa dose si può continuare senza danno per qualche giorno, quando si sia arrivati ad essa mediante un aumento lievemente progressivo.

Le differenze tra l' avvelenamento per via gastrica e per via ipodermica consistono nel dover usare, per via gastrica, dosi molto maggiori di veleno, ma il decorso del quadro fenomenologico è presso a poco il medesimo.

Nell'avvelenamento acuto si svolgono in modo tumultuoso ed incompleto gli stessi fenomeni che si possono seguire meglio nell' avvelenamento cronico, fenomeni cui ora accennerò, togliendo dal giornale di laboratorio un' esperienza, la quale rappresenta il tipo delle molte già eseguite in questo Istituto.

Coniglio bigio maschio del peso di gr. 2000, in ottime condizioni di salute. Iniezioni ipodermiche di tricloroto di vanadio ($VCl_3 + 6H_2O$). Titolo della soluzione 1 %.

| Data | Dosi del veleno in milligrammi | Osservazioni |
|---|---|---|
| 1901 | | |
| Maggio 20 | 1 | |
| » 21 | 1 | |
| » 22 | 2 | L'animale sta bene ed ha appetito. |
| » 23 | 2 | Si nota a tratti un leggerissimo tremore. L'orina non contiene né albumina né alcun altro elemento patologico. |
| » 24 | 3 | Non si nota più il fenomeno ora accennato. |
| » 25 | 4 | |
| » 26 | 5 | Esame dell'orina sempre negativo. |
| » 27 | 6 | |
| » 28 | 8 | Dopo l'iniezione l'animale si mostra depresso. Non rifiuta però il cibo. Si manifesta nuovamente, ma più accentuato, il tremore accessionale. |
| » 29 | 10 | Aumenta il tremore. |
| » 30 | 12 | Sono più accentuati i sintomi di depressione. |
| » 31 | 15 | L'orina contiene tracce di albumina. |
| Giugno 1 | 18 | Mangia pochissimo. Peso corporeo gr. 1700. |
| » 2 | 20 | L'orina contiene albumina in discreta quantità. L'esame microscopico del sedimento non mostra nulla di anormale. |
| » 3 | 25 | Persiste l'albuminuria. Diminuzione progressiva d'appetito. Scariche leggiermente diarroiche. |
| » 4 | 30 | Tremori più accentuati. Aumenta la diarrea. |
| » 5 | 35 | Albuminuria, diarrea, depressione generale. |
| » 6 | 35 | » » » » |
| » 7 | — | Non si fa iniezione viste le condizioni, peggiorate dal giorno precedente. |
| » 8 | — | » » » » |
| » 9 | — | L'animale muore. Pesa gr. 1500. |

All'*autopsia* si trova il cuore in diastole. Reni fortemente congesti. Il fegato presenta segni evidenti di degenerazione grassa. Forte congestione di tutta la mucosa del tubo gastro enterico.

In questa mia prima nota mi sono limitato allo studio anatomo-patologico di alcuni organi e precisamente del rene, del fegato, del miocardio e dei muscoli volontari e del tubo gastro-enterico. L'esame del sistema nervoso figurerà in un'altra prossima nota.

## Tecnica.

In questo studio io ho voluto principalmente esaminare se le alterazioni indotte dal vanadio erano simili a quelle determinate da altri noti elementi del V° gruppo. E poichè questi elementi (specialmente l'arsenico ed il fosforo) danno luogo, fra le lesioni più costanti e caratteristiche, alla degenerazione grassa di molti epitelî ghiandolari, mi sono servito di una tecnica istologica che mi permettesse di apprezzare convenientemente l'esistenza o meno anche di tali alterazioni.

Come liquido fissatore ho adoperato nella maggior parte dei casi il liquido di *Flemming*.

In questo lasciavo delle sezioni non più spesse di 3 o 4 millimetri per 48 ore. Poi lavaggio per 24 ore in acqua corrente, passaggio nella serie successiva degli alcool, inclusione in paraffina, sezioni al microtomo e montatura delle sezioni in balsamo del Canadà. Come sostanza colorante ho adoperato la safranina che si presta più di ogni altra per i pezzi fissati in liquido di *Flemming*.

Oltre a questo metodo ho seguito molto spesso anche quello indicato dal *Daddi* (24) per la colorazione del grasso col sudan III e precisamente: fissazione dei pezzi per qualche giorno in formalina (10 %) od in liquido di *Müller*. Sezioni per congelazione. Colorazione col sudan III, indi con un colore di contrasto, montatura in balsamo o meglio in glicerina.

I risultati che ottenni furono concordi con ambo i metodi.

Le alterazioni microscopiche che ho riscontrato negli organi furono le seguenti.

## Descrizione istologica.

*Reni.* — Le alterazioni renali nel complesso non sono molto gravi e differiscono un po' tra loro a seconda che si tratti di avvelenamento acuto o cronico.

*Avvelenamento acuto.* — Nel caso di avvelenamento acuto le modificazioni più notevoli del rene consistono in uno stato

iperemico di questo. La congestione tuttavia non raggiunge un alto grado e non è diffusa uniformemente nelle due sostanze. Infatti i vasi glomerulari ed i glomeruli non si presentano certo molto congesti e non riempiono completamente lo spazio capsulare. I vasi sanguigni sono invece più dilatati in corrispondenza dei punti in cui si capillarizzano per formare la ricca rete vascolare che circonda la porzione ascendente delle anse di *Henle* e specialmente in corrispondenza dei tubi collettori e della papilla. Il parenchima renale invece si presenta quasi normale. Le capsule di *Bowmann* hanno il loro epitelio appiattito disposto regolarmente. Di volume non modificato sono i glomeruli, il cui epitelio è pure ben conservato. Nei tuboli contorti si vedono tutte le cellule con il loro nucleo che assume perfettamente i colori basici. Nel protoplasma non si distinguono però nettamente i bastoncini che caratterizzano le cellule di questa porzione del rene. Le anse di *Henle* (branca ascendente e discendente) ed i tubi collettori non presentano invece nulla d'anormale.

Devo notare un altro fatto, che però ho potuto osservare in un solo caso di avvelenamento subacuto, e che perciò non assume valore generale. Voglio alludere ad una trombosi jalina di qualche vaso di medio calibro posto in corrispondenza della linea di passaggio tra sostanza corticale e midollare. Non ho potuto scorgere invece la benchè minima traccia di degenerazione grassa, sebbene non mi sia limitato soltanto a fissare col liquido di *Flemming*, ma, come ho detto, abbia fatto anche dei preparati col sudan III, secondo il metodo indicato dal *Daddi*.

Ho visto, è vero, del grasso, ma questo non era sotto forma di goccioline nell'interno del protoplasma della cellula, ma alla periferia della sostanza corticale e sotto forma di goccie grosse che si devono interpretare come grasso residuo sottocapsulare.

*Avvelenamento cronico.* — Negli avvelenamenti cronici il parenchima renale presenta pure alterazioni lievissime e poco importanti in corrispondenza della sostanza corticale.

I fenomeni congestizii sono meno spiccati, ma troviamo

invece delle lesioni importanti e degne di nota che riguardano il sistema vascolare dell'organo (vedi fig. 1).

Vediamo che alcuni vasi di medio calibro e capillari presentano un notevole ispessimento della loro tonaca esterna. Tale ispessimento in parte riguarda l'avventizia del vaso, in parte è dato da un notevole aumento del connettivo perivascolare. Questo è infiltrato da numerosissimi elementi giovani che assumono con grande intensità i colori basici e che si presentano alcuni sotto forma rotonda, altri mandano delle propaggini che, intrecciandosi tra loro, costituiscono una rete a larghe maglie nelle quali stanno disseminati tubuli renali e vasi sanguigni capillarî. E mentre i canalicoli renali che stanno al di fuori di queste zone di infiltrazione, sono normali, quelli che vi sono entro compresi, presentano alterazioni più o meno intense e che consistono specialmente in una minore affinità del nucleo verso le sostanze coloranti.

Tali focolai di infiltrazione non sono però diffusi, ma posti qua e là e di preferenza nella sostanza corticale.

L'infiltrazione non si estende molto all'intorno del vaso, cosicchè a poco a poco il parenchima si mostra normale. I vasi capillari prossimi al focolaio risaltano molto più degli altri posti in punti normali.

Nell'avvelenamento cronico ho potuto notare la presenza di grasso nell'interno del protoplasma cellulare, ma in quantità molto scarsa. Il grasso aveva sede specialmente nelle cellule dei tubuli contorti.

In un solo caso ho riscontrato delle lesioni parenchimatose gravi ed indipendenti dalle interstiziali (23).

Dobbiamo escludere in via assoluta che le alterazioni descritte possano essere dovute al bromo combinato al vanadio, bromo che, come sappiamo specialmente dall'accurato studio che il *Beorchia Nigris* fece sulle alterazioni anatomiche nell'avvelenamento per bromuri (25), può portare gravissime lesioni in tutti gli organi, perchè: I° io ho ottenuto queste lesioni adoperando indifferentemente tanto il tricloruro che il tribromuro di vanadio: II° le lesioni riscontrate dal *Beorchia* coi bromuri differiscono alquanto da quelle che ho trovato io

col vanadio, e consistono per l'avvelenamento acuto, in fatti emorragici (emorragie glomerulari, rottura dei vasi intertubulari, con distruzione del parenchima, fatti d' infiltrazione grassa ecc., i quali si riscontrano anche, ma in grado più limitato, nell' avvelenamento cronico.

*Fegato.* — Le alterazioni epatiche nell'avvelenamento acuto e cronico per vanadio differiscono tra loro più per l' intensità che per la natura. Le cellule epatiche singolarmente prese si presentano abbastanza bene conservate. Mostrano la loro normale forma poligonale ed il nucleo fortemente tingibile. Ciò però si riscontra di preferenza nell' *avvelenamento acuto.* In questo si nota la presenza di grasso nell' interno delle cellule epatiche. Il grasso, non molto abbondante è in forma di goccie finissime che in numero, in generale, di 3-4 per cellula, stanno disposte irregolarmente intorno al nucleo che è normale o quasi. Ma oltre a queste goccioline finissime, ne troviamo altre di più grosse, le quali hanno una disposizione speciale. Vale a dire non stanno nell'interno del protoplasma cellulare, ma sono disposte negli spazi che dividono le cellule e precisamente hanno sede nelle cellule di *Cupffer.*

Questo ultimo fatto è poi evidentissimo nell' *avvelenamento cronico* (vedi fig. 2). Il grasso intracellulare si presenta pure sotto forma di goccioline, le quali sono molto più numerose che nel caso precedente (anche 8-10 e più per cellula) e che hanno sede non solo nel protoplasma, ma talora anche nel nucleo che, in questo caso, si presenta vescicoloso e meno ben conservato che nell' avvelenamento acuto.

Le cellule di *Cupffer* poi contengono numerose ed abbastanza grosse goccie, che confluendo tra loro formano dei blocchetti di grasso, che fanno spiccare la loro forma ed apparire più evidenti gli spazi intercellulari. Nell' avvelenamento cronico quindi, il grasso è in quantità maggiore che nell' avvelenamento acuto. Fatti questi che ho potuto riscontrare esperimentando in parecchi animali e facendo preparati col liquido di *Flemming* e col *sudan III.*

I fatti congestizii sono invece maggiori nell' *avvelenamento acuto,* benchè nemmeno in questo molto accentuati e consistono

piuttosto in una stasi sanguigna di alcune vene centrali, che in veri fenomeni d'iperemia attiva. La distribuzione del tessuto connettivo nel fegato non presenta quelle particolarità degne di nota che abbiamo osservato a proposito dei reni. Normali sono i vasi sanguigni ed i biliari.

Le lesioni riscontrate dal *Beorchia* nel fegato (vedi nota 25, pag. 182) nell'avvelenamento per bromuri differiscono pure in gran parte da quelle da me ora descritte, consistendo in enorme stasi di tutto il sistema vasale, in abbondanti e frequenti emorragie che in alcuni casi avevano distrutto in parte il parenchima del viscere. Grande aumento dei diametri della vena centrale. atrofia delle cellule epatiche interposte ai capillari. Nel protoplasma cellulare, forte numero di piccole gocciole adipose.

*Miocardio.* — Anche il tessuto del miocardio presenta delle alterazioni interessanti, ma che differiscono però da quelle che abbiamo visto nel fegato.

Tali lesioni non sono diffuse uniformemente su tutto il miocardio, ma circoscritte. Troviamo infatti dei punti in cui le fibre muscolari sono normali presentando nette tanto la striatura longitudinale che la trasversale e regolare la disposizione dei nuclei che, in numero non aumentato, mostrano molta affinità verso le sostanze coloranti. Ma troviamo ancora dei punti nei quali le fibre sono molto alterate in causa dell'infiltrazione di un gran numero di elementi giovani. Tali elementi hanno grande affinità verso le sostanze coloranti, sono numerosissimi e stanno disseminati in un tessuto che ha perduto ogni carattere della fibra muscolare. Esso infatti è omogeneo e non presenta nè striatura, nè nuclei, facendo astrazione naturalmente dagli elementi giovani che lo infiltrano. Si vede però benissimo ch'esso è in continuazione colle fibre muscolari, le quali, all'intorno di questo focolaio si presentano pure molto alterate (vedi fig. 3).

Non si discerne più in esse la striatura trasversale, mentre la longitudinale spicca più del normale ed in certe fibre anzi è tale da produrre lo sfibrillamento di queste secondo il senso della lunghezza. Non ho potuto scorgere invece in alcun punto la segmentazione trasversale della fibra, segmentazione

che riscontrò frequentemente il *Giacomelli* (26) in molti casi di infezioni e di avvelenamenti e che costituisce la cosidetta miocardite segmentaria del *Renaut*. Nelle fibre alterate prossime al focolaio di infiltrazione, i nuclei sono molto aumentati di numero e meno ben conservati che nelle fibre normali. Assumono meno intensamente i colori basici ed alcuni si presentano ancora vescicolosi. Non si osserva invece la degenerazione grassa della fibra cardiaca nemmeno nei punti più alterati. Man mano che ci allontaniamo da questi focolai, le fibre vanno assumendo aspetto più normale; le striature si presentano manifeste e va diminuendo il numero dei nuclei. Questi fatti si riscontrano prevalentemente nell'*avvelenamento cronico* per via ipodermica; in quello *acuto* le zone di infiltrazione parvicellulare sono meno evidenti, mentre appaiono più intense delle lesioni acute, quali congestioni ed emorragie.

I fatti emorragici sono sparsi qua e là indifferentemente ed i punti di tessuto in cui hanno sede si mostrano tanto alterati da non lasciar riconoscere nemmeno la loro struttura. Anche l'emorragie sono a focolaio, cosicchè man mano che ci allontaniamo da esse, si presentano minori le alterazioni. I vasi intracardiaci non presentano in generale gravi alterazioni, astraendo naturalmente dai punti che sono sede di emorragia. Tutto al più si vede un leggierissimo ispessimento della tonaca avventizia, senza però che a tale ispessimento contribuisca un aumento di connettivo perivascolare, dato da infiltrazione linfoide, come abbiamo visto per i reni.

*Muscoli striati volontari.* — L'esame microscopico non dimostrò in questi nulla di anormale.

Il *Beorchia*, (25, pag. 178) trovò che nè il miocardio, nè i muscoli striati degli animali morti in 3ª giornata dell'avvelenamento o che avevano preso grandi quantità di bromuri, presentavano alterazioni. In quelli invece che vivevano più a lungo, le alterazioni erano limitate a singole fibre o a gruppi di fibre e consistevano nella scomparsa della striatura trasversale ed in una incipiente degenerazione albuminosa.

*Tubo gastro-enterico.* — Le alterazioni gastro-enteriche nell'avvelenamento *acuto* e *cronico* per vanadio differiscono più

per l'intensità che per la natura. La mucosa gastrica e l'intestinale sono fortemente infiltrate da elementi giovani ed hanno perduto il normale aspetto villoso. Le sezioni ghiandolari sono meno alterate e si scorgono in esse abbastanza distinte le cellule con il nucleo che assume quasi normalmente le sostanze coloranti.

Queste sezioni sono però un po' schiacciate dall'infiltrazione parvicellulare che le circonda. Nell'*avvelenamento cronico*, oltre a queste alterazioni della mucosa, troviamo qua e là, nello spessore di essa dei focolai emorragici, in corrispondenza dei quali il tessuto è profondamente alterato. Nella sottomucosa troviamo in certi punti, infiltrazione parvicellulare, però molto meno intensa che nella mucosa. Si osserva invece forte dilatazione dei vasi linfatici, in cui si scorgono numerosi elementi linfoidi, fortemente coloràbili. Nulla di speciale presenta la tonaca muscolare. Dilatati sono i vasi della sierosa. Tali alterazioni hanno sede, di preferenza, nell'intestino tenue.

Le lesioni principali riscontrate dal *Beorchia* (25 pag. 183-86), già più volte citato, nello stomaco e nell'intestino di animali avvelenati coi bromuri, consistevano per lo stomaco in fatti emorragici, per gli intestini in stasi sanguigne ed in piccole emorragie.

## Interpretazione dei risultati.

Prima di passare all'interpretazione delle lesioni da noi descritte nell'avvelenamento acuto e cronico per vanadio, credo utile ricordare molto rapidamente i sintomi che accompagnano gli avvelenamenti acuti e cronici per altri elementi del V° gruppo e specialmente per fosforo, arsenico, antimonio e bismuto, e insieme le alterazioni anatomiche che vi corrispondono.

I sintomi che accompagnano l'*intossicazione acuta* per fosforo e per arsenico, sono, come è noto, da principio gastroenterici (vomiti, diarree), che, specialmente, per quanto riguarda l'*arsenico*, possono simulare un vero caso di Cholera. Seguono poi fenomeni nervosi depressivi accompagnati da grande debolezza cardiaca. L'itterizia e l'albuminuria accompagnano spesso l'avvelenamento da fosforo; meno frequentemente, specialmente l'itterizia, quello da arsenico. All'autopsia

si trova forte congestione ed infiammazione di tutta la mucosa gastro-enterica e se l'animale od il paziente ha sopravvissuto qualche giorno, degenerazione grassa del fegato e di altri epiteli ghiandolari.

Nell'*avvelenamento cronico* per *fosforo*, si svolge un quadro clinico che si può confondere coll'atrofia giallo-acuta del fegato e coll'ittero grave. All'autopsia si può trovare aspetto cereo del cadavere, numerose petecchie ed ecchimosi sottocutanee. Emorragie sottopleuriche, pericardiche, intramuscolari. Degenerazione grassa degli epiteli delle ghiandole gastriche ed intestinali. Fegato fortemente degenerato in grasso e così pure il miocardio, i reni e le cellule ganglionari del sistema nervoso centrale (*Gurrieri* (27)).

Nell'avvelenamento *cronico* per *arsenico* si hanno disturbi da parte dell'apparato digerente (stomatiti, sete ardente, esagerazione nei movimenti peristaltici, vomiti); dell'apparato circolatorio (tachicardia) dovuta, sembra, in parte a lesioni del sistema nervoso, in parte a degenerazione del muscolo cardiaco; degli organi respiratorî (catarri laringo-bronchiali); del sistema nervoso (turbe psichiche, lesioni della sensibilità e della motilità). La cute subisce alterazioni trofiche.

All'autopsia, quando prevale la forma gastro-enterica, il cadavere appare più magro in causa della forte perdita di acqua. La mucosa gastro-enterica è arrossata e tumida. L'esame microscopico lascia riconoscere una vera gastro-adenite parenchimatosa che si estende principalmente al duodeno ed all'ileo. Il fegato, i reni, il miocardio, i muscoli presentano segni di degenerazione grassa. Tali lesioni hanno luogo indifferentemente tanto che il veleno sia stato introdotto per via gastrica, quanto per via ipodermica.

Nel complesso abbastanza simile all'avvelenamento per arsenico, è quello per antimonio (28). Nella *forma acuta* si hanno i sintomi di una violenta gastro-enterite, preceduta da sensazione, peso e bruciore allo stomaco. Quando insorge il vomito, questo può esser tumultuoso e ripetuto fino ad emettere muco e bile; spesso hanno luogo scariche diarroiche e sanguinolente. Seguono poi fenomeni di collasso e coma.

All'autopsia si trova iperemia e flogosi della mucosa gastro-enterica con profusa secrezione di muco e distacco degli epitelî. Fegato tumido con intorbidamento granulo grassoso delle cellule, iperemia renale.

Nella forma *cronica* si manifestano sintomi di nausea, malessere generale, sfinimento delle forze. Dolori gastro-enterici, talora diarrea, qualche volta invece costipazione. Depressione neuromuscolare e cardiaca, progressiva sino alla morte. Dall'autopsia non è risultata finora alcuna lesione caratteristica.

Veleno molto energico, se somministrato in forma di sale solubile, si mostrò pure il bismuto; ma di tale elemento ne sappiamo ancora molto meno che del precedente.

Il *Binz* (8) dice però che anche il bismuto produce una sintomatologia simile a quella dell'arsenico e che *Stefanowitsch* somministrando un sale solubile di bismuto trovò degenerazione grassa del fegato. *Langhans*, citato da *Levi* (29), trovò nei reni di animali avvelenati per bismuto distruzione della parte interna degli epitelî dei canalicoli contorti, con nuclei nel lume. Intorbidamento dell'epitelio delle anse ascendenti e dei canalicoli retti; cilindri jalini o granulosi nella zona di confine tra sostanza corticale e midollare, essudati granulosi nella capsula glomerulare, focolai di infiltrazione parvicellulare ed allargamento dello stroma.

* * *

Il quadro fenomenologico e specialmente le alterazioni anatomo-patologiche descritte nell'avvelenamento acuto e cronico per vanadio, sono molto degne d'interesse, perchè dimostrano la corrispondenza tra l'analogia chimica e l'analogia biologica del vanadio cogli altri elementi del V° gruppo sopra ricordati. Le lesioni più importanti in questo senso, riguardano il fegato.

La degenerazione grassa di questo che si riscontrò in proporzioni lievi nell'avvelenamento acuto e molto maggiori in quello cronico, che significato può avere? Noi sappiamo che anche fisiologicamente il fegato contiene del grasso, ma il

grasso che si trova normalmente nel fegato è, come si sa, sotto forma di fini goccioline che si riscontrano specialmente 12-13 ore dopo un abbondante pasto.

Nei casi che io ho studiato non si può certamente ammettere che il grasso riscontrato nel fegato fosse fisiologico perchè:

I° in quantità notevolmente maggiore di quello che si può osservare in via normale;

II° la disposizione (peri- ed intra-nucleare) di questo grasso e le alterazioni che ho potuto osservare in alcune cellule epatiche (specialmente nucleo vescicoloso e poca affinità verso le sostanze coloranti) escludono che si tratti di semplice infiltrazione grassa, mentre depongono invece per la degenerazione (30);

III° perchè ho potuto riscontrare il grasso proprio in periodi, nei quali gli animali, in causa delle condizioni gravi in cui si trovavano, non introducevano che scarsissime quantità di alimento; in condizioni in cui la diminuzione notevole del peso corporeo dinotava un'alterazione profonda del ricambio materiale, durante la quale il grasso depositato nei tessuti doveva anzi essere consumato.

A che è dovuto allora questo grasso?

Mi sembra ch'esso deva avere la stessa origine di quello che si riscontra nell'avvelenamento per fosforo e per arsenico. Questi due ultimi, come dice il *Giacosa* (31), possono definirsi « veleni del ricambio ».

« Il grasso che si forma in tutti i tessuti non è indizio del rallentarsi della distruzione di quello preesistente, ma sta a rappresentare un residuo della molecola albuminoide la quale costituiva i tessuti viventi e per effetto del farmaco soggiacque ad una scomposizione anomala. Il residuo azotato di questa stessa molecola in condizioni normali si trasforma in urea, ma nella distruzione rapida degli albuminoidi per l'avvelenamento da fosforo, l'organismo non possiede per così dire il tempo di agire su tale residuo, cosicchè si ha l'eliminazione di composti azotati diversi dall' urea, quali sono la leucina, la tirosina e sostanze peptoniformi in grande quantità, tutti

prodotti che in condizioni normali del chimismo sarebbero ancora utilizzati ».

Ora io, il grasso l'ho trovato in notevole quantità nel fegato ed in grado minore nei reni (avvelenamento cronico). La degenerazione grassa diffusa a tutti i tessuti si riscontra, come ho detto, specialmente nell'avvelenamento per fosforo e meno spiccata in quello per arsenico. Ciò non ci deve meravigliare, pensando che questi veleni, compreso il vanadio, se hanno un'azione simile sul ricambio, non l'hanno però identica. Gli effetti di questa azione, fondamentalmente simile, si manifestano però di preferenza sull'organo che in causa della sua posizione, struttura e funzione fisiologica costituisce come una barriera tra la circolazione intestinale e la generale e ritenendo molti veleni protegge con proprio danno il resto dell'organismo da maggiori pericoli.

L'arsenico ed il vanadio, come abbiamo veduto, producono delle gravi lesioni nel tubo gastro-enterico *da qualunque parte dell' organismo vengano introdotti;* lesioni che sono più intense per l'arsenico, ma non di differente natura, e che rappresentano come per quest'ultimo un'intossicazione generale per la via del sangue e non un'azione locale diretta, come ce ne fanno prova l'estensione della lesione a tutto il canale gastro-enterico e la circostanza, già accennata, che cioè dette lesioni si sviluppano indipendentemente dalla via di applicazione.

I fenomeni nell'avvelenamento per arsenico sono però un po' più complessi, giacchè abbiamo un primo periodo in cui c'è enorme dilatazione dei vasi dell'intestino. A questo tengono dietro più tardi le lesioni anatomiche prodotte dall'arsenico che si elimina per la mucosa (vedi nota 31, pag. 167). Il vanadio, almeno presumibilmente, in base al decorso della sintomatologia, non darebbe luogo che alla seconda fase, che si riscontra in un periodo più avanzato dell'avvelenamento ed alla quale corrispondono i sintomi di diarrea e le alterazioni di infiltrazione della mucosa, i fatti emorragici ecc. dovuti tutti ad azione del vanadio che si elimina per la mucosa gastro-enterica, a meno che i fenomeni relativi al I° periodo sieno così rudimentali da sfuggire alla nostra indagine.

E come prodotto d'intossicazione generale per la via del sangue, dovremo pure ritenere le alterazioni che abbiamo riscontrato nel *miocardio* (focolai d'infiltrazione parvicellulare ed emorragie con distruzioni di tessuto, fenomeni che si riscontrano pure nell'intossicazione arsenicale ed in grado più intenso in quella per fosforo. È certo che tali lesioni devono di per sè stesse contribuire ad accelerare la fine dell'animale poichè compromettono la funzione di un organo quale il cuore.

I fenomeni congestizî e la scarsa degenerazione grassa che abbiamo riscontrato nel *rene* possono ragionevolmente interpretarsi con lo stesso meccanismo d'azione che abbiamo invocato per le alterazioni degli altri organi. Abbiamo visto però che nel rene oltre a queste lesioni di tipo, quasi direi, comune, ne esistono altre che riguardano di preferenza il tessuto connettivale dell'organo. Queste lesioni non sono state descritte, a quanto io sappia, per altri elementi del V° gruppo e quindi allontanerebbero il vanadio da questi, mentre lo avvicinerebbero, s'intende esclusivamente per rispetto a questa alterazione singolare anatomo-patologica, ad altri veleni minerali che producono sui reni lesioni simili, come il mercurio ed il piombo. Così il *Karwonen* (32) notò che nell'avvelenamento subacuto e cronico per sublimato corrosivo, esistono nel rene oltre alle lesioni parenchimatose, anche le interstiziali, le quali sono spesso autonome, indipendenti dalle prime. Il *Banti* (32) nelle sue esperienze sull'avvelenamento cronico per sublimato corrosivo trovò che i fatti interstiziali nel rene erano molto più spiccati a paragone degli epiteliali.

Il *Paviot* (32) studiando l'avvelenamento saturnino subacuto e lento nel rene, trovò che i glomeruli erano del tutto intatti; che in nessun caso, sebbene fossero molto numerose le esperienze fatte, gli epitelî si mostrarono primitivamente ed unicamente alterati; che la sclerosi fu spesso trovata al di fuori di ogni alterazione tubulare, mentre questa non fu mai trovata isolata.

Fatti simili furono descritti dal *Patella* (33) rispetto alle tossine bacteriche. Le alterazioni che abbiamo descritto sono però sufficienti a spiegare l'albuminuria che fu riscontrata

non in grado notevole, ma costantemente nell'avvelenamento per vanadio, rimanendo tuttavia l'esame del sedimento, sempre negativo.

Sappiamo infatti che l'albuminuria può esser data anche da semplici disturbi circolatorî, indipendentemente da lesioni degli elementi funzionanti, lesioni che tuttavia nei nostri casi si riscontrarono, ma in grado assai leggiero.

* * *

La posizione che occupa il vanadio nel V° gruppo della classificazione del *Mendelejeff*, è molto interessante per noi poichè ci può render conto, non solo delle analogie, ma anche di alcune differenze biologiche che abbiamo riscontrato esistere tra questo elemento ed altri del gruppo dell'azoto.

Se noi osserviamo lo specchietto del V° gruppo che qui per comodità riporto,

| V° Gruppo | |
|---|---|
| $MH_3$ | $M_2O_5$ |
| N 14 | |
| | P 31 |
| V 51 | |
| | As 75 |
| Nb 94 | |
| | Sb 120 |
| Ta 182 | |
| | Bi 210 |

vediamo che il vanadio entra a far parte del sotto-gruppo, dell'azoto, mostrando spiccate analogie col niobio e col tantalio. Questi elementi (vanadio, niobio e tantalio) pur avendo

molte analogie chimiche col fosforo, arsenico ed antimonio, se ne allontanano tuttavia, per essere di natura più metallica. L' altro elemento del V° gruppo, il bismuto, in relazione all'aumento del peso atomico acquista proprietà veramente metalliche. Il vanadio quindi, facendo astrazione dal niobio e dal tantalio, con i quali, forma per così dire, un gruppo naturale a parte, ha maggiori analogie per il fosforo, arsenico ed antimonio che per il bismuto, e più per l' arsenico e per l'antimonio che per il fosforo, il quale ha caratteri decisamente metalloidici, mentre l' arsenico e l' antimonio incominciano ad avere proprietà metalliche. Niobio e tantalio poi devono allontanarsi dall' arsenico molto di più di quello che faccia il vanadio, come già osservava il *Coronedi* nel citato lavoro (9) (1).

Ma ciò che mi preme far notare è, che il vanadio pur presentando delle analogie chimiche cogli elementi del sotto-gruppo laterale (specialmente arsenico) presenta anche delle differenze, differenze che abbiamo visto esistere anche biologicamente e che con molta probabilità andranno accentuandosi per gli altri elementi del suo sotto-gruppo, Nb e Ta (34).

* * *

Scopo del presente lavoro era anche quello di rilevare nel campo biologico eventuali analogie che esistono nel campo chimico tra il V e gli altri elementi del V° gruppo e fin qui abbiamo camminato su una strada abbastanza conosciuta. Ma l' interpretazione del meccanismo col quale si determinano i sintomi e le lesioni anatomiche descritte, appare a prima vista impossibile e senza base solida prima d' aver compiuto lo studio, che abbiamo in corso, sul contegno biologico dei preparati in questione.

D' altra parte però intendendo parlare dell' elemento V, il quale agisce per sè medesimo, poichè sappiamo che le soluzioni dei composti da noi adoperati sono fortemente dissociate

(1) Il vanadio, nelle sue combinazioni, rappresenta l' elemento intermedio dei due sottogruppi P, As, Sb, Bi e Nb, Ta. Basta considerare l'analogia dell' ossicloruro di vanadio rispetto all' ossicloruro di fosforo e sopratutto l' isomorfismo dei vanadati con gli arseniati e coi fosfati.

idroliticamente (22), non posso tacere il dubbio che si arrivi presto a dare l'interpretazione scientifica, indiscutibile del suo meccanismo d'azione, dal momento che regna disaccordo e confusione anche oggi rispetto ad altri elementi del V° gruppo, assai più studiati del V, quali ad es. il P e l'As, non ostante che già il *Binz* e lo *Schultz* (vedi nota 8, pag. 447-450-452) e di recente ancora il *Berthail* (vedi nota 19, pag. 205-6-7-8-9-10) ed il *Soulier* abbiano tentato il raffronto tra P, As e V unificandoli nel meccanismo d'azione, la quale si svolgerebbe sui seguenti principî. « Notevolissimo è il riscontro che tutti i membri del gruppo dell'azoto, consistente in elementi tri- e pentavalenti, offrono dal lato chimico e tossicologico. Sono l'azoto, l'arsenico, il fosforo, l'antimonio, il bismuto, il vanadio. Nell'organismo dall'acido arsenioso nasce l'acido arsenico e dall'acido arsenico, l'acido arsenioso. La vicendevole trasformazione di ambo gli acidi produce nel protoplasma che la opera, rapide fissazioni o perdite di ossigeno. Questa è la causa dell'azione velenosa dell'arsenico. L'arsenico, come elemento, non sarebbe quindi che il trasportatore dell'ossigeno atomistico, attivo. È poi straordinariamente interessante il riscontro del vanadio con l'arsenico. I gradi più bassi dell'ossidazione del vanadio si ossidano molto facilmente a spese delle molecole vicine contenenti ossigeno; i più alti cedono altrettanto facilmente ossigeno ai corpi riduttori ».

Recentemente il *Berthail* (vedi nota 19, pag. 205-6-7-8-9-10) coll'appoggio del *Soulier* ammise che il vanadio potesse agire indirettamente facilitando l'azione di fermenti ossidanti e disossidanti, (ipotetici).

Sassari, dicembre 1901.

---

## Bibliografia

(1) Spica, *Chimica Medico-Farmaceutica e tossicologica* (Vol. I, pag. 535, Feltre, Tipogr. Pamfilo Gastaldi, 1895).

(2) Demarcays, *Sur la presence du Vanadium, Molildéne, Crome dans le végétaux.* (Compt. rendus de la Société de Biolog., Tomo CXXX, n. 2, 1900).

(3) Priestley, Philosoph. Trans. Roy. Soc., Vol. 166, pag. 495-566.

(4) Platt, Lancet, 1876, 15 febbr.
(5) A. Gamgee and L. Larmouth, *On the action of Vanadium upon the intrinsic nervus mechanisme of the froys heart.* (Journ. of Anat., XI, 1879, Vol 2°, part 2ª, pag. 285).
(6) L. Larmouth, *On the poisons activity of vanadium im ortho-meta-and pyrovanadic acid.* (Journ. of. Anat., XI, 1879, Vol. 2°, pag. 258).
(7) *Virchow's Jahresberichte der Gesammten Medicin.*, 1877, pag. 400.
(8) Binz, *Lezioni di Farmacologia Sperimentale.* (Trad. A. Solaro, Napoli, 1888).
(9) G. Coronedi, *Analogia chimica e fisiologia fra il tartrato antimonioso potassico (emetico di Sb.) e quello Vanadoso potassico (emetico di V.).* (Lo Sperimentale, 1896).
(10) Laran, *Recherches sur l'acide Vanadique.* (Compt. rendus de la Société de Biolog., 1898, pag. 221).
(11) Hallion et Laran, *Sur l'action cardiovasculaire des composés de Vanadium.* (Société de Biolog., 29 mai 1899).
(12) Lyonnet, Martz et Martin, *Emploi thérapeutique des derivés du Vanadium.* (Lyon Médicale, n. 9-12, 1899).
(13) Lyonnet, Martz, Martin et Guinard, *Le metavanadate de soude en thérapeutique et son action physiologique.* (Compt. rendus de la Société de Biologie, 1899, pag. 707).
(14) Weber, *De l'emploi thérapeutique des sels du Vanadium.* (Revue de Clinique, 28 mai 1899).
(15) Delarue, *Emploi des sels de Vanadium en thérapeutique.* (Revue de Clinique, 26 mai 1899).
(16) Helouis et Delarue, *La vanadine; son influence stimulante dans la tuberculose.* (Compt. rendus du Congrès pour l'étude de la tuberculose, 1898, pag. 895).
(17) Laran, *Le vanadium; ses proprietes chimiques applicables à la thérapeutique.* (Société de Thérapeutique, 7 mars 1898).
(18) Laran, *Le vanadium et ses composés; applications thérapeutiques.* (Presse Médicale, n. 32, 1899).
(19) Berthail, *De l'emploi thérapeutique du Vanadium.* (Thèse de Lyon, 1899).
(20) *De la toxicité du metavanadate de soude.* (Compt. rendus de la Société de Biologie, 1 janvier, pag. 479).
(21) Kobert. *Lehrbuch der Intoxicationen.* S. 304.
(22) Piccini e Brizzi, *Ueber neue dem Sesquioxid entsprechende Vanadinverbindungen.* (Zeitschr. f. anorgan. Chemie, Bd. XIX, 1899).
(23) R. Luzzatto, *Ricerche farmacologiche sul Vanadio e in rapporto agli altri elementi del V gruppo*, (Comunic. alla Società Medico-Fisica Sassarese 14 giugno 1901, Gazzetta degli Ospedali, n. 81, 1901).
(24) L. Daddi, *Nouvelle méthode pour colorer la graisse dans les tissus.* (Archives Italienn s de Biologie, 1896, e Giornale della R. Accad. di Torino, n. 2).
(25) A. Borchia-Nigris, *Sulle alterazioni anatomiche nell'avvelenamento acuto per bromuri e sulla loro importanza clinica.* (Bullettino delle Scienze Mediche di Bologna, 1889).
(26) G. Giacomelli, *Il miocardio nelle infezioni, intossicazioni, avvelenamenti.* (Il Policlinico, febbraio-marzo 1901).

(27) R. Guerrieri, *Degenerazioni sistematizzate del midollo spinale nell' avvelenamento sperimentale per fosforo*, (Rivista sperimentale di frenatria, 1896).
(28) Vedi C. Raimondi, *Avvelenamento per antimonio.* (Trattato italiano di Patologia e Terapia Medica. Avvelenamenti) e C. Raimondi, *Gli avvelenamenti per antimoniali.* (L' Orosi, gennaio, 1899).
(29) G. Levi, *Delle alterazioni prodotte nel rene dal cloruro di sodio.* (Lo Sperimentale (Sezione biologica), fasc. III, anno XLIX).
(30) Vedi a questo proposito F. Carini, *Contributo allo studio della metamorfosi grassosa.* (Lo Sperimentale, Arch. di Biologia Normale e Patologica, Fasc. I, 1901).
(31) P. Giacosa, *Trattato di Materia medica, Farmacologia, ecc.*, pag. 164. (Torino, Fratelli Bocca, ed., 1901).
(32) Citati dal Patella, vedi nota 33.
(33) V. Patella, *Sclerosi renali post-infettive.* (Rivista Veneta di Scienze mediche, 1900).
(34) V. a questo proposito anche A. Curci, *La Farmacologia secondo la legge periodica della Clinica.* (Messina, 1887).

---

## Spiegazione della Tavola.

I preparati furono osservati con un microscopio Reichert. Obb. 3–8a; oc. 2 e $^1/_{12}$ imm. omog. oc. comp. 4.

Figura 1. — Rene di Coniglio; avvelenamento cronico.
- *a*) Vasi sanguigni.
- *b*, *c*) Tessuto sclerotico circostante, ricco di elementi giovani.
- *d*) Tuboli renali disseminati in mezzo all' infiltrazione.

Figura 2. — Fegato di Coniglio; avvelenamento cronico.
- *a*) Canalicolo biliare normale.
- *b*) Grasso sotto forma di grosse goccie che hanno sede nelle cellule di *Kupffer*.
- *c*) Grasso sotto forma di fini goccioline, che hanno sede nell' interno della cellula epatica.

Figura 3. — Miocardio di Coniglio; avvelenamento cronico.
- *a*) Fibre cardiache prossime ad un focolaio di infiltrazione parvicellulare che non mostrano la striatura trasversale.
- *b*) Focolaio d' infiltrazione parvicellulare.

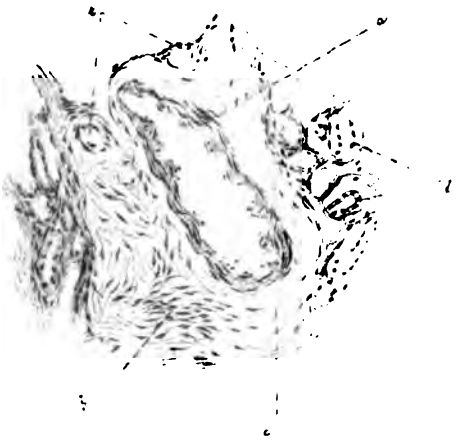


fig. 1

fig. 2

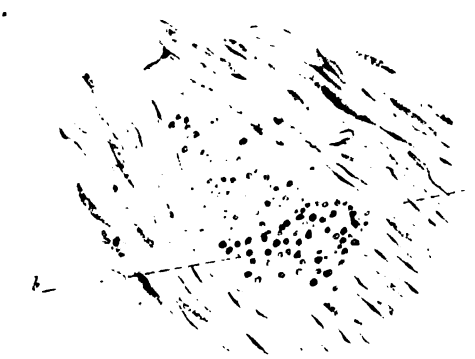


fig. 3

# RENDICONTI

DELLE

# ADUNANZE DELL' ACCADEMIA MEDICO-FISICA FIORENTINA

## Resoconto sommario delle sedute.

### Adunanza pubblica del dì 13 Novembre 1901.

Presiede il Prof. G. CHIARUGI, *Presidente*.

Sono presenti i Soci: Banchi, Bessone, Bottazzi, Capei M., Colzi, Comba, Donzellini, Flora, Guidi, Giuntoli, Livini, Lugaro, Luisada, Magni, Orlandini, Pacchioni, Pieraccini, Radaeli, Silvestrini, Stori, Tanzi.

**Prof. E. Tanzi.** — *Sopra una teoria dell' allucinazione.*

L'O. si fonda sopra un principio tuttora controverso di fisiologia, cioè che nella corteccia cerebrale esistano centri rappresentativi diversi per natura e per sede da quelli di sensibilità: e su questa base costruisce una teoria dell'allucinazione, che, mentre evita alcune contraddizioni delle ipotesi fin qui adottate, spiega un gran numero di fatti clinici senza urtare contro le leggi della fisiologia. Il principale difetto delle teorie precedenti è la loro inconciliabilità con la localizzazione bilaterale delle immagini visive. Se un'irritazione locale agisce sul centro visivo d'un emisfero, l'allucinazione dovrebbe assumere la forma emianopsica, ciò che non avviene mai; d'altra parte è impossibile ammettere che l'azione morbosa si eserciti doppiamente nei due emisferi, provocando mezza immagine nell'uno e mezza nell'altro. Questa difficoltà è rimossa accettando la teoria proposta dall'O., che consiste principalmente nel separare la sede della sensazione da quella della rappresentazione, e nel ritenere che l'immagine allucinatoria sia un'idea formatasi altrove e retrocessa nei centri sensoriali in modo da acquistare l'apparenza d'una sensazione.

Il meccanismo dell'allucinazione è adattabile non solo alle nozioni di fisiologia che attualmente si possiedono, ma anche ai dati dell'anatomia; e si applica con chiarezza anche alle allucinazioni combinate di più sensi,

al fenomeno della ripetizione sonora del pensiero, alle immagini allucinatorie che si producono soltanto con gli occhi chiusi e ad altre singolarità cliniche, che riescono oscure con le teorie precedenti.

**Bottazzi.** Gli sembra che l'ipotesi del prof. Tanzi urti contro una difficoltà grave, poichè essa si appoggia sopra un fatto che sarebbe nuovo in fisiologia, cioè che una corrente nervosa potrebbe percorrere una stessa fibra in due direzioni opposte.

**Tanzi.** Riconosce per il primo che la sua teoria è ipotetica, ma gli pare che con essa meglio, che con le altre enunciate finora, si possano spiegare le allucinazioni. Risponde al socio Bottazzi che non è dimostrato in fisiologia che una corrente nervosa non può seguire in una stessa fibra due direzioni opposte. Del resto il grandissimo numero di fibre associative che esistono nel cervello permette di ritenere che alcune di esse possano servire alla direzione centripeta ed altre alla direzione centrifuga della corrente nervosa.

**Luisada** domanda al prof. Tanzi se egli ammette che le sensazioni che retrocedono verso i centri sensitivi, siano coscienti.

**Tanzi** risponde che si crede che le allucinazioni possano essere la rappresentazione di uno stato mentale poco cosciente.

**Bessone** domanda al prof. Tanzi quale rapporto egli mette fra le allucinazioni e le figure rappresentative che si hanno nel sonno.

**Tanzi.** Non siamo sicuri se le figure rappresentative del sonno siano realmente delle allucinazioni. Bisogna tuttavia tenere presente che il sonno è una intossicazione che produce nel cervello un lieve sopore, favorevole alla manifestazione di allucinazioni.

**Pacchioni** ricordando le allucinazioni volontarie di Cardano, domanda se in condizioni normali possono avvenire fatti allucinatori volontari, i quali potrebbero confermare efficacemente l'ipotesi del prof. Tanzi.

**Tanzi** risponde che bisogna dubitare molto delle allucinazioni volontarie descritte da alcuni, poichè egli crede che le allucinazioni sono sempre un fenomeno patologico.

**Galeotti prof. Gino.** — *Ricerche sulla conducibilità elettrica dei tessuti animali.* — (Non fu consegnato il manoscritto).

*Il Vice-segretario degli Atti*
C. Comba.

**Adunanza pubblica del dì 20 Novembre 1901.**

Presiede il Prof. A. LUSTIG, *Consigliere.*

Sono presenti i Soci: BADUEL, BANCHI, BESSONE, BLOCH, BOTTAZZI, BUFALINI, CAPEI M., CELONI, COMBA, DONZELLINI, FLORA, FRANCESCHI, GUAITA, LIVINI, LUISADA, MYA, PACCHIONI, PESTALOZZA, PICCHI, RADAELI, STORI.

Il presidente presenta all'Accademia il **Prof. Morpurgo** della Università di Siena, il quale svolge una comunicazione sopra *Recenti studi sull' osteomalacia dei ratti albini*, illustrando pure numerosi pezzi patologici e preparati istologici.

ONOREVOLI COLLEGHI,

Vi rendo grazie per avermi data occasione di esporre alcuni nuovi risultati delle ricerche sull'osteomalacia infettiva dei ratti, e Vi prego caldamente di volere, con le Vostre osservazioni ed obiezioni, rendere più sicuro e proficuo l'indirizzo di questi miei studi.

Essi furono iniziati quattro anni or sono ed ebbero origine dalla osservazione di una piccola epidemia di osteomalacia, sviluppatasi in ratti albini e pezzati che tenevo da qualche tempo in una gabbia d'isolamento, per iscopo di altro studio. I quattro ratti che vivevano in quella gabbia caddero tutti in preda alla malattia e le indagini batteriologiche eseguite su tre di essi mi permisero di isolare un germe, un diplostrettococco, che, introdotto nel corpo di altri ratti adulti della medesima razza, riprodusse fedelmente il quadro morboso osservato nei ratti malati spontaneamente.

Alla fine dell'anno scorso, di *quarantatre esperimenti* di infezione eseguiti, *ventisette* avevano avuto un *risultato positivo*; e fra questi uno s'era svolto presto e mi aveva offerto l'occasione di indagare il processo morboso nelle sue origini. Di questo primo gruppo di ricerche ho dato pubblica notizia nel Congresso dei patologi tenutosi in Aquisgrana, nella seduta del 19 settembre 1900.

D'allora in poi continuai le esperienze che oggi sommano a 150. Parecchie delle nuove esperienze furono dirette alla ricerca di stadi iniziali del processo. Ma i molti animali sagrificati inutilmente pochi giorni dopo l'infezione, mi persuasero a desistere dal tentativo intrapreso e mi convinsero che la malattia si inizia a periodi assai diversi e spesso distanti dall'epoca dell'inoculazione, cosicchè la probabilità di poter co-

stituire una serie dei varii stadi della malattia è troppo esigua, perchè si possa farne oggetto di ricerca metodica.

Nondimeno, in alcuni casi, dopo un tempo relativamente breve, trovai nelle ossa delle alterazioni corrispondenti a fatti iniziali e così potei stabilire che da principio si ha sviluppo di quel tessuto che riveste le superfici interne delle ossa e che *Ziegler*, contrapponendolo al midollo splenoide, chiama periostio interno, mentre *Recklinghausen* vuole sia detto enostio.

Questo tessuto, accompagnato da giovani vasi sanguigni, s'insinua nella sostanza ossea in forma di papille e progredisce formando lacune e canali uniti fra di loro da arcate molteplici.

L'alisteresi precede l'invasione di questo tessuto connettivo ricco di cellule osteoblastiche. La distruzione della sostanza ossea è fornita in molti luoghi, ma non sempre nè dovunque, dagli osteoclasti. Progredendo la malattia, la sostituzione della sostanza ossea per parte del connettivo diventa sempre più estesa, ma accanto ai processi di dissoluzione, restano attivi anche quelli di neoformazione, così che nell' osso, definitivamente assai rarefatto, si può dimostrare che molte delle trabecole presenti sono attraversate da un sistema di fibre di *Sharpey*, che irradiano, come le setole di uno spazzolino da provette, dall' asse verso la periferia. Questo riscontro, quando si tratti di trabecole che, per il luogo dove si trovano, dovrebbero essere di origine endocodrale, ci autorizza ad ammetterle neoformate e provenienti dal tessuto connettivo che ha invaso l'osso.

Il processo di rarefazione ossea, che nei casi gravi interessa tutto lo scheletro, nei casi più leggeri è localizzato a parti anche assai limitate di esso. Perciò è sempre necessario di fare l'esame di una gran parte del sistema osseo, onde poter affermare o negare l'esistenza della malattia.

Dei 150 esperimenti eseguiti, quarantacinque sono di fresca data e non possono ancora essere giudicati riguardo al loro risultato, 19 non possono essere considerati, perchè riguardano animali uccisi ad un periodo assai breve di tempo dopo l'inoculazione o morti per malattia diversa intercorsa; degli altri, 59 sono risultati positivi, 15 danno segni non abbastanza manifesti della malattia e soltanto 12 possono dirsi non riusciti.

Importa di far notare come i primi 41 casi, che furono seguiti per un tempo lungo, risultarono definitivamente positivi, con una sola eccezione dovuta ad infezione purulenta, consecutiva al tentativo di introdurre i germi direttamente nel midollo osseo della tibia. Via via che il tempo di osservazione si fa più breve le lacune nei risultati positivi diventano maggiori e più frequenti. Ma bisogna rammentare che, quando feci l'anno scorso la mia comunicazione in Acquisgrana, dei primi 42 casi dei quali riferii, solo 27 furono assegnati fra i positivi, tutti gli altri andarono cadendo malati entro quest'anno. Si tratta dunque di una malattia

che non solo spesso s'inizia assai tardi, dopo l'infezione, ma che il più delle volte raggiunge ancora più tardi quel grado di gravezza che possa manifestare la sua esistenza ad un esame esteriore.

Giova inoltre di far notare come certe serie di animali riuscirono quasi interamente positive, mentre altre diedero risultato meno costante. Ciò è da attribuirsi senza dubbio alla bontà del germe inoculato.

Così per esempio: di 17 ratti inoculati con germi provenienti dal ratto X, 16 risultarono positivi ed uno dubbio. Dieci ratti infettati con materiale proveniente dal ratto V divennero tutti malati, così pure sei ratti inoculati con quello del ratto E (spont. malato), mentre di quattro animali infettati col materiale del ratto VIII, due non ammalarono ed altri due mostrarono soltanto segni dubbi di malattia.

Quanto alle alterazioni osservate, la massima parte corrispondono a quelle descritte nella mia prima comunicazione. Così furono riscontrate con grande costanza le deformità della colonna vertebrale (lordosi e scoliosi dorsale), le deformazioni del torace, le trasformazioni a mo' di conchiglia delle scapole, le piegature ad arco e ad angolo delle tibie e delle fibule, la rarefazione della calotta del cranio e di tutte le ossa in genere, sì piatte che lunghe.

Oltre a queste, nelle nuove esperienze ho riscontrato spesso cifosi della colonna lombare e deformazioni del bacino, sopratutto la scoliosi. Di queste deformità ho portato alcuni esemplari che Vi presento.

In un altro punto essenziale le mie ricerche di quest'anno mi hanno fatto modificare i concetti espressi nella mia prima comunicazione. Cioè riguardo alla sensibilità degli esemplari giovani all'infezione. Mentre nel riassumere le prime esperienze io avevo detto che gli individui giovani non sono sensibili all'infezione, ora, avendo adottato un altro metodo di sperimentazione, ho potuto dimostrare che anche in individui assai giovani la malattia attecchisce.

Le mie prime esperienze furono fatte su ratti di due e di quattro mesi per molto tempo gli animali si mantennero sani all'aspetto, così che mentre il loro accrescimento era quasi completo, non erano stati ancora notati fenomeni di malattia dello scheletro. Soltanto più tardi questi fenomeni si presentarono ed ora sono manifesti.

Considerando il lungo periodo che può intercedere fra l'infezione e lo sviluppo, od almeno la chiara manifestazione della malattia, pensai di eseguire l'inoculazione del germe subito o poco dopo la nascita e, così operando, ebbi dei resultati positivi.

Questi resultati, mentre rettificarono le mie vedute, mi rivelarono dei fatti che, se non erro, sono del più grande interesse per la patogenesi di un'altra malattia dello scheletro, assai oscura nella sua eziologia e patogenesi: la rachitide.

Nei ratti giovani, in seguito all'infezione, oltre al processo che può dirsi malacico delle ossa già formate, si notano gravi alterazioni delle

zone epifisarie, con caratteri istologici che le ravvicinano essenzialmente a quelle della rachitide umana.

In questo fotogrammo voi vedete ritratto uno dei ratti inoculati due giorni dopo la nascita e fotografato all'età di cinque mesi. Insieme a lui, con impressione istantanea fu ritratto un rattino coetaneo, non inoculato. Oltre alle deformità della colonna vertebrale e degli arti, spiccano il pelo irsuto e l'aria macilenta dell'animale infetto. Queste altre fotografie rappresentano il torace, il bacino e le estremità di questo rattino morto due giorni dopo l'esecuzione della fotografia.

Quest'altre fotografie corrispondono ai preparati microscopici della epifisi inferiore del femore di un altro rattino di 3 mesi e mezzo, anche esso inoculato 2 giorni dopo la nascita. Perchè meglio risalti l'alterazione, Vi prego di mettere a confronto codesta fotografia con questa, che raffigura, allo stesso ingrandimento, una corrispondente sezione di epifisi inferiore del femore di un rattino gemello del primo, non inoculato, sagrificato con esso.

Lo spostamento posteriore dei condili, la vasta zona cartilaginea irregolarmente invasa da papille midollari e confinante senza limiti con un territorio attraversato da molti travicelli osteoidi tramezzati da tessuto connettivo ricco di vasi, risaltano in confronto dell'ordinata disposizione che si osserva nel sano, rispondente alla normale ossificazione endocondrale.

In quest'ultima fotografia, vedete a forte ingrandimento il limite fra la cartilagine ed i travicelli osteoidi, ed è chiaro il passaggio diretto, la metaplasia, della cartilagine in sostanza osteoide.

La lesione epifisaria interessa in grado diverso anche le altre ossa lunghe ed evidentemente non è consecutiva alle deformazioni inerenti al processo di rammollimento osseo, poichè essa si ritrova anche in ossa lunghe con diafisi ancora non deformata.

La presenza del processo malacico nella sostanza ossea formata accanto all'alterazione epifisaria spiegano tutte le gravi alterazioni dello scheletro di questi ratti.

Mancano o sono di poca entità le alterazioni dipendenti dal periostio e ciò in contrapposto con quanto si avvera nella rachitide umana.

*Dimostrazione microscopica dei preparati seguenti.*

1. Sezione trasversa dell'omero del ratto 96. Stadio iniziale.
2. » » del femore del ratto 28 » »
3. » » » » » zone carminiche.
4. » longitudinale di tibia del ratto 5. Stadio avanzato d'osteomalacia.
5. » longitudinale di metatarso del ratto *C*.

6. Epifisi inferiore del femore di ratto normale coetaneo del ratto 100.
7. » » » » ratto 100 (di tre mesi e mezzo d'età).
8. Testa del femore di ratto normale coetaneo del ratto 100.
9. » » » del ratto 100.
10. Sezione longitudinale della epifisi anteriore di costa del ratto 84 (di tre mesi e mezzo).
11. Sezione longitudinale della epifisi superiore dell'omero del ratto 100 (non decalcificato con acidi).
12. Zona di metaplasia della cartilagine epifisaria in travicelli osteoidi (epifisi inferiore del femore del ratto 100).

**Flora** domanda come si comportava il germe nel punto d'innesto, se si trovarono lesioni viscerali e se i germi si trovavano soltanto nelle ossa oppure anche altrove.

**Morpurgo** risponde che la reazione locale in generale era minima: non osservò mai suppurazione.

Prescindendo dal sistema osseo, le alterazioni più cospicue furono trovate nel midollo spinale, nel quale si dimostrò la presenza dei germi colle culture e coll'esame diretto: gli elementi nervosi erano profondamente alterati. Riguardo agli altri organi le alterazioni erano insignificanti. Tutto al più, se gli animali morivano poco tempo dopo l'iniezione, si osservava tumore di milza. Se gli animali campavano molto, si trovava alla necroscopia atrofia dei muscoli, del fegato, della milza, degli intestini, ipertrofia del cuore e stasi polmonare, che l'O. considera come fatti secondari, dovuti in parte al marasma, in parte alle deformazioni della cassa toracica.

**Pacchioni.** Chiede se le lesioni riscontrate lungo la linea epifisaria nei topi giovani e dal prof. Morpurgo interpretate come rachitiche, possono attribuirsi non ad una azione diretta della infezione determinata, ma bensì ad alterazioni della nutrizione.

**Morpurgo.** Ratti marantici ve ne sono molti, ma muoiono senza lesioni ossee. Queste egli le osservò soltanto negli animali inoculati col germe speciale di cui ha parlato. Egli ritiene quindi che siano in rapporto colla infezione provocata sperimentalmente.

**Pestalozza,** rilevando la quasi identità delle lesioni dei ratti osteomalacici con quelle delle pelvi di donne affette da osteomalacia, accenna all'interesse che potrebbero avere le ricerche del prof. Morpurgo per lo studio dell'osteomalacia umana. Senonchè molti argomenti mancano per potere applicare a questa la teoria infettiva, e specialmente è contrario il fatto che l'osteomalacia umana spesso guarisce in seguito alla esportazione degli organi genitali.

**Morpurgo.** Non gli è riuscito di riprodurre la malattia, mediante inoculazioni, in altri animali, anche di specie affini ai ratti. Egli quindi ritiene che la malattia da lui provocata sperimentalmente nei ratti, sia propria di questi animali, e non intende di ravvicinarla all'osteomalacia umana.

**Lustig** domanda al prof. Morpurgo tre schiarimenti: 1. Quale è la via d'ingresso del germe nella malattia spontanea? 2. La moltiplicazione dei germi nell'organismo animale è rapida o avviene lentamente? 3. Furono fatti esperimenti coi prodotti del microrganismo e quali furono i risultati?

Il prof. **Morpurgo** risponde: 1. Provò a fare convivere dei ratti sani con altri malati, ma non osservò mai alcun caso di infezione. Non fece esperienze sulla infezione per via digerente, limitandosi solo ad inoculazioni sottocutanee. 2. Il microrganismo resiste bene in tutti gli organi, compreso il sangue. In casi recenti si trova spesso nella milza e nel midollo spinale, mentre nulla accenna ad una localizzazione prevalente nel midollo osseo. 3. Le esperienze fatte coi prodotti del microrganismo non dettero risultati positivi.

*Il Vice-segretario degli Atti*
C. Comba.

---

## Adunanza pubblica del dì 27 Novembre 1901.

Presiede il Prof. G. CHIARUGI, *Presidente*.

Sono presenti i Soci: Azzurrini, Baduel, Banchi, Bloch, Celoni, Colzi, Daddi, Fairman, Fano, Flora, Livini, Lugaro, Lustig, Magni, Nesti G., Pellizzari, Pestalozza, Picchi, Pieraccini, Puritz, Radaeli, Silvestrini, Stori.

**Fano prof. Giulio.** — *Sui fenomeni elettrici del cuore.*

Ho voluto studiare sistematicamente nel cuore i fenomeni elettrici ed i loro rapporti colle funzioni meccaniche e coll'innervazione. Ho scelto come animale d'esperienza l'Emys europaea per la molta resistenza che essa presenta e per la pratica personale che ho di questo chelonio. L'animale viene immobilizzato colla distruzione dell'encefalo e il cuore lasciato in situ è indagato, per quel che riguarda i fatti elettrici, per mezzo di elettrodi impolarizzabili di D'Arsonval, che vanno ad un elettrometro capillare, e per quel che riguarda le funzioni meccaniche col metodo della sospensione. I fatti elettrici e meccanici, come pure il momento e la durata degli stimoli faradici, quando si studiano i processi innervativi, vengono registrati sulla stessa ordinata, col metodo fotografico. Per maggior semplicità e brevità di linguaggio adopero gli stessi termini per rappresentare i fatti osservati siano essi di ordine meccanico od elettrico. Così dico di un polso elettrico, di un ritmo elettrico, come in altre oc-

casioni ho già detto e dirò di un tono elettrico e delle oscillazioni di esso, ecc.

Alcune ricerche furono eseguite appoggiando uno degli elettrodi impolarizzabili alla base del ventricolo o di un atrio, e l'altro alla punta rispettivamente della stessa sezione del cuore. In altre ricerche uno solo degli elettrodi, il positivo, è appoggiato alla base del ventricolo o di uno degli atri, e l'altro è messo in rapporto col suolo. Dei molti risultati ottenuti con queste ricerche, mi limito a richiamare l'attenzione dell'Accademia sul fatto seguente che si osserva nelle esperienze eseguite appoggiando i due elettrodi rispettivamente l'uno sulla punta e l'altro sulla base di uno degli atri, ed eccitando il vago con uno stimolo insufficente in modo da non ottenere il silenzio completo della funzione contrattile, ma una notevole rarefazione del ritmo e sopra tutto una grande diminuzione nell'ampiezza delle singole escursioni. Come si sa il polso elettrico del cuore è bifasico e questo suo carattere si interpreta come il risultato del trasporto di un'onda di negatività, dalla base alla punta. In altre parole ad ogni rivoluzione cardiaca la base comincia coll'essere negativa rispetto alla punta per poi diventare alla sua volta relativamente positiva. Ora nelle esperienze sopra citate noi vediamo qualche volta che durante lo stimolo insufficiente del vago ciascuna delle minime contrazioni dell'atrio è accompagnata da un polso elettrico profondamente modificato nella sua forma, nel quale cioè è molto attenuata la fase negativa della base mentre di essa si presenta esageratamente sviluppata la fase positiva. Si ha insomma una specie di inversione della forma del polso elettrico. Questo fatto qualche volta si presenta non già, come si disse, durante lo stimolo insufficente del vago, ma dopo che è cessato lo stimolo, quando le escursioni cardiache vanno gradatamente crescendo per ritornare all'ampiezza normale. Questa inversione del polso elettrico durante o dopo lo stimolo del vago dimostra, a mio parere, che il polso elettrico bifasico del cuore non è determinato soltanto da un'onda di negatività che dal punto prossimale si diffonda al punto distale, ma che a determinare detto polso bifasico entrano in azione modificazioni positive della base, che si accentuano durante lo stimolo del vago. In altre parole alla variazione negativa seguirebbe una variazione positiva e da queste due variazioni deriverebbe la forma caratteristica del polso elettrico del cuore. A meglio rendere ammissibile questa interpretazione contribuisce il fatto che anche nel polso elettrico normale sono vari i rapporti fra fase negativa e positiva, sicchè in alcuni casi predomina la prima, in altri la seconda. Non rappresenterebbero queste variazioni speciali congiamenti nel rapporto fra i fatti catabolici e gli anabolici del cuore, e non è la inversione del polso elettrico durante la stimolazione del vago una nuova prova della natura anabolica dei fatti inibitori?

Mi riprometto di applicare il metodo impiegato per l'indagine del

cuore, allo studio delle funzioni di altri tessuti e di altri organi e in particolar modo a quello delle manifestazioni funzionali dei centri nervosi.

**Tanzi** fa una domanda, la quale, come l'O. avverte, riguarda più che altro l'avvenire della teoria svolta dal prof. Fano. Domanda: se il professor Fano si ripromette anche dallo studio della funzione di altri organi i buoni risultati ottenuti collo studio della funzione del cuore. Intende l'azione anabolica del vago sul cuore che di continuo funziona, ma non altrettanto saprebbe spiegarsi un'azione così organizzata per altri organi; ad esempio il cervello, che ogni notte ha il proprio riposo.

**Fano** risponde, che egli ha buona speranza di ottenere resultati positivi nelle sue ricerche sul cervello, perchè esso pure ha indiscutibilmente una forma di attività ritmica ed il bisogno di un anabolismo efficace ed immediato.

Fra molte ragioni, che conducono ad ammettere questo bisogno vi è sopra tutte quella appunto della forma ritmica dell'attività cerebrale. Se il cervello avesse sempre una quantità di materiale sufficiente ad una funzione continuata non si comprenderebbe il perchè della ritmicità della sua attività.

Il **Presidente** fa noto, che gli è giunta una lettera del prof. **Mya**, il quale chiede che si muti il giorno, in cui si tengono le adunanze dell'Accademia medico-fisica, poichè quello ora stabilito coincide con uno dei giorni in cui esso deve tener lezione. Si stabilisce, che le adunanze d'ora innanzi abbiano luogo il martedì di ogni settimana alle ore 5 pom.

*Il Vice-segretario degli Atti*
C. Comba.

---

## Adunanza pubblica del dì 3 Dicembre 1901.

Presiede il Prof. G. BANTI, *Consigliere.*

Sono presenti i Soci: Azzurrini, Baduel, Banchi, Bottazzi, Celoni, Comba, Fairman, Fano, Livini, Luisada, Lustig, Magni, Marcacci, Mya, Nesti G., Pacchioni, Picchi, Pieraccini, Radaeli, Silvestrini.

**F. Bottazzi** e **G Pieraccini.** — *Contributi alla conoscenza della funzione dei reni.*

Pur essendo noto per studi precedenti potersi avere nelle nefriti una ritenzione di urea nel sangue e non mancando neanche numerose determinazioni del punto di congelamento del sangue nei nefritici, gli

AA. credettero potesse avere un certo interesse determinare in ciascun ammalato, l'azoto ureico-urico e il punto di congelamento contemporaneamente nel sangue e nelle urine. Per azoto ureico-urico gli AA. intendono quello delle sostanze, che dopo il trattamento con una soluzione concentrata di tannino passano nel filtrato, e che nel caso speciale non può essere dato da altre sostanze all'infuori dell'urea, degli urati e della creatinina. Sull'impiego del tannino per la precipitazione dei corpi proteici fu già comunicato all'Accademia dal Bottazzi nel maggio u. s.

Queste ricerche forniscono dunque due dati importantissimi nel sangue e nelle urine, cioè la pressione osmotica totale e la quantità di urea e di acido urico, comparativamente.

I resultati furono questi: 1° *Per il sangue:* Posti come valori normali per l'uomo gr. 0,5 di azoto e $\Delta = -0,51°$ C in cifre tonde, entrambi questi valori nei nefritici si trovarono superiori al normale.

L'azoto alcune volte fu più del doppio sempre più o meno aumentato.

I valori di $\Delta$ trovati furono pari ai più alti finora ottenuti da altri osservatori: i massimi furono — 0,703 e — 0,704. Il maggior numero di volte furono trovati valori intermedi fra — 0,600 e — 0,640. In un solo caso si ebbe una cifra di poco inferiore alla norma (— 0,535) e fu in un caso in cui alla necroscopia si constatò una lieve lesione renale (inizio di sclerosi accompagnata da arteriosclerosi generalizzata e cirrosi epatica).

I valori di $\Delta$ e di N nelle determinazioni ripetute in un medesimo ammalato non mostrarono di modificarsi parallelamente come si sarebbe potuto aspettarsi, ma spesso scemò l'azoto rimanendo quasi immutato $\Delta$ o si ebbe l'inverso. Gli AA. credono di non potere spiegare questi fatti apparentemente contradittorii, altrimenti che con l'ammettere che il passaggio attraverso ai reni dei sali minerali non seguita necessariamente quello dei corpi azotati non proteici, che l'eliminazione degli uni è almeno in parte indipendente da quella degli altri e che perciò il meccanismo di queste diminuzioni è diverso così che in un caso di nefrite può soffrir l'uno, in un altro l'altro, secondo la natura e l'intensità della lesione renale.

2° *Nell'orina.* Posti come valori normali N = 10 gr. ‰ e $\Delta = 1,5°$ C. In tutti i casi fu osservato su per giù lo stesso fatto, cioè, scarsa diminuzione di azoto per l'orina, che neanche, e questo era già noto, avveniva in modo regolare, alternandosi periodi di scarico a periodi di ritenzione.

Quanto alla pressione osmotica dell'orina essa fu sempre abnormemente bassa, anche quando la quantità di liquido *pro die* non era straordinariamente grande; oltre alla quantità d'acqua emessa influisce dunque sul $\Delta$ anche la quantità di corpi solubili, che varia nei diversi casi, e di giorno in giorno in alcuni di essi. La pressione osmotica dell'urina tende dunque nei nefritici ad equipararsi a quella del

sangue, in certi casi può divenire perfino inferiore a questa; il che non può essere dato da altro che da una ritenzione di catabolíti nell'organismo.

Comparando quel che fu trovato nel sangue con quello che fu trovato nelle urine, si può dire che per i valori di Δ e di N nel sangue si constatarono sempre aumenti, nelle urine diminuzioni, avendosi per queste ultime oscillazioni maggiori. Sebbene sembri probabile da queste ricerche, come con lo studio accurato e ripetuto di questi dati si potrebbe forse giungere a decifrare in vita qualche cosa della lesione renale in modo forse più fino e sicuro di quel che non si faccia finora, gli AA. credono prematuro enumerare qualunque conclusione in questo senso.

**Fairman** domanda al socio Bottazzi se i malati sui quali furono fatte le ricerche erano in uno stato uremico o in condizioni di sufficenza renale. Ricorda poi a questo proposito che circa 2 anni fa nel laboratorio del prof. Fano egli istituì delle ricerche sulla crioscopia delle orine di cani, ai quali venivano estirpati i due reni. Il valore di Δ era 0,62 - 0,63 prima dell'operazione, e tale si manteneva per i primi due giorni dall'atto operativo, ma in seguito saliva rapidamente a 0,78—0,84 e l'animale moriva.

**Bottazzi** risponde che alcuni degli ammalati erano in stato uremico ed altri no.

**Banti** premesso di non sappiamo quali parti del rene sono deputate alla secrezione dei sali e quali a quella dei materiali urici, domanda al Bottazzi se nelle sue ricerche egli tenne conto della specie della nefrite, poichè è noto che in alcune nefriti prevalgono le lesioni del glomerulo ed in altre quelle dell'epitelio dei canalicoli.

Ora se il dott. Bottazzi avesse potuto osservare un rapporto fra il reperto delle orine e quello delle lesioni renali, egli avrebbe recato un contributo alla soluzione del problema della funzione delle varie parti del rene.

Inoltre il socio **Banti** osserva a proposito delle esperienze del dottor Fairman, che lo scoppio improvviso dell'uremia si può avere nell'uomo per occlusione degli ureteri. Anche in queste condizioni, come nei cani che hanno subito la nefrectomia, si ha un equilibrio perfetto per alcuni giorni e poi ad un tratto scoppiano i fenomeni uremici, seguiti rapidamente da morte.

**Bottazzi**. Risponde al prof. Banti che per potere recare un contributo alla soluzione del problema, che egli ha proposto, è necessario un numero di casi maggiore di quello da lui studiato. Di più è indispensabile di avere molte necroscopie ed esami istologici del rene.

*Il Vice-segretario degli Atti*
C. Comba.

**Adunanza pubblica del dì 10 Dicembre 1901.**

---

Presiede il Prof. G. CHIARUGI, *Presidente.*

Sono presenti i Soci: AZZURRINI, BADUEL, BANTI, BOTTAZZI, BUFALINI, CAPEI M., COLZI, COMBA, DADDI, DONZELLINI, FANO, GUIDI, JAJA, MARCACCI, NESTI G., PACCHIONI, PICCHI, PIERACCINI, STORI, TONARELLI.

**Tonarelli dott. Carlo.** — *Sopra un tumore dell' avambraccio di diagnosi clinica e di interpretazione istogenetica difficile.*

L'O. illustra un tumore dell'avambraccio, originatosi spontaneamente, che fa corpo colla massa dei muscoli epicondiloidei, indipendente dalla pelle, dalle ossa e dalla vicina articolazione. In un mese circa raggiunse il volume di un uovo di tacchina; non fu sede di speciali dolori; lievi turbe nervose nel campo innervato dal radiale comparvero negli ultimi periodi di accrescimento.

Basandosi sui caratteri fisici del tumore e sopra un accurato esame clinico dell'ammalato, l' O. esclude si tratti di un nevroma del radiale, di fibro-sarcoma o sarcoma delle aponeurosi, di una miosite ossificante, di cisti idatidea calcificata, di encondroma, di ganglio o di gomma sifilitica; quest' ultima affezione viene esclusa anche dal criterio supremo, la cura specifica.

L' operazione e l' esame istologico del tumore giustificano questa incertezza diagnostica perchè si trattava di un epitelioma tubulato pavimentoso.

L'O. fa risaltare le caratteristiche istologiche del tumore, specialmente riguardo alla morfologia ed alla interpretazione di alcuni elementi, che si osservano fra le cellule epiteliali; e al modo con cui si comporta il tessuto muscolare di fronte all' invasione della proliferazione neoplastica. Dimostra collo studio istologico che le fibre muscolari vengono distrutte e per atrofia da compressione e per invasione delle cellule epiteliali, e che i nuclei muscolari non prendono parte al processo proliferativo.

Per dar ragione dello sviluppo di un tumore epiteliale in un organo che non presenta normalmente epitelio, non avendo l' esame clinico nè il reperto necroscopico (l' ammalato morì dopo 4 mesi per carcinosi diffusa in seguito a ripetizione del neoplasmo all' avambraccio), dimostrata l' esistenza di un focolaio primitivo in altro organo epiteliale, l' O. sorvola sulla possibile origine embrionale. Però è più propenso in omaggio alle moderne nozioni di anatomia patologica a considerare questo tumore quale localizzazione metastatica di un tumore primitivo

situato in altro organo rimasto latente. Allo stesso modo che altri molti patologi, e tra questi *Fittig* in una recente memoria (Beiträge z. klin. Chirurgie, Bd. 29, 1901), combattono la teoria di coloro che vogliono considerare come primitivi gli epiteliomi riscontrati in diversi organi e specialmente nelle ossa, dove normalmente non esistono organi epiteliali, per il solo fatto che all'autopsia non fu possibile rilevare un focolaio primitivo in organo epiteliale.

**Picchi.** Rammenta benissimo aver eseguita la necroscopia del caso citato dal dott. Tonarelli. Riscontrò numerosi noduli neoplastici metastatici, ma non fece ricerche accurate per trovare il tumore primitivo causa delle medesime, perchè la storia clinica, riferita a voce da chi aveva richiesta la sezione, portava la nozione di operazione subita per tumore epiteliale del braccio e questa notizia era confermata da una cicatrice lineare evidentemente operatoria sulla cute del braccio indicato. Per questo egli si credè pienamente autorizzato a riferire al tumore asportato la sorgente delle metastasi.

**Banti.** Conferma quanto disse il dott. Picchi. Inoltre egli ricorda che alcuni anni fa osservò un individuo che morì con noduli secondari di epitelioma nei visceri. Alla necroscopia si penò molto a trovare il punto di partenza del neoplasma, che finalmente si trovò in una ulcerazione lineare sottilissima d'una prima nasale, la quale aveva i margini lievemente indurati. In questo frammento di prima nasale si trovò all'esame istologico un epitelioma limitato, che aveva la stessa struttura dei noduli secondari dei varî organi.

Egli ha voluto ricordare questo caso perchè dimostra chiaramente che da un punto neoplastico primitivo, quasi inosservato, si può avere una metastasi imponente; e domanda se nel caso descritto dal dottor Tonarelli non si possa supporre che ci sia stata una lesione cutanea primitiva tanto piccola da passare inosservata.

**Colzi.** Il malato di cui ha parlato il dott. Tonarelli era stato tenuto per molto tempo in osservazione nella Clinica chirurgica, e non fu trovata alcuna localizzazione nella cute o in altri organi, che permettesse di ritenere che il tumore dei muscoli dell'avambraccio fosse secondario.

**Bottazzi dott. Filippo.** — *Sulla coagulazione del sangue di alcuni animali marini e sui mezzi per impedirla.*

Negl'*invertebrati marini*, eccetto i crostacei, il sangue non presenta il comune fenomeno della coagulazione. Soltanto i linfociti si aggruppano in corpi che furon detti *sincizii* o *plasmodii*. Quest'aggruppamento è una conseguenza dell'alterazione che i linfociti subiscono subito dopo usciti dall'animale, e forse ha luogo per adesione dell'endoplasma dei singoli linfociti nei punti dove, per la rottura dell'ectoplasma, rimane a nudo. Impedendo l'alterazione dei linfociti con un volume considerevole di soluzione d'albuminosi-peptone 10 %, i sincizii non si formano più.

Nei *crostacei* si verifica una reale coagulazione, che viene impedita tanto dal peptone quanto dall'ossalato potassico, *in vitro*, purchè di queste soluzioni venga impiegato un volume almeno triplo di quello del sangue. Il peptone iniettato negli animali viventi rimane senza effetto sulla coagulabilità del sangue.

Negli *Elasmo-branchii* l'iniezione nel sangue per la *vena portae* di peptone in soluzione, nella proporzione di gr. 0,5 — 0,8 per chilogramma di peso del corpo dell'animale, rende il sangue di questo incoagulabile. L'effetto è lo stesso come nei mammiferi.

L'iniezione di peptone nel fegato, non per il sangue, ma per il canal coledoco, non produce, nei *Teleostei*, alcun effetto sulla coagulazione del sangue di questi animali.

Segue una discussione alla quale prendono parte i soci **Fano**, **Banti** e **Chiarugi**.

*Il Vice-segretario degli Atti*
C. Comba.

---

**Adunanza pubblica del dì 17 Dicembre 1901.**

Presiede il Prof. G. CHIARUGI, *Presidente.*

Sono presenti i Soci: Azzurrini, Baduel, Banchi, Banti, Bessone, Bottazzi, Bufalini, Capei M., Colzi, Comba, Flora, Guaita, Jaja, Livini, Lustig, Nesti G., Orlandini, Pacchioni, Pestalozza, Picchi, Pieraccini, Stori, Tonarelli, Toti.

**Jaja Dott. Florenzo.** — *La sutura immediata dell' uretra nelle rotture traumatiche.*

L'A. riferisce su alcuni casi di rottura traumatica dell'uretra perineale e sul resultato operatorio ottenuto con la sutura immediata della ferita, perchè sono lesioni relativamente frequenti e nelle quali il trattamento immediato ed opportuno ha un'importanza capitale.

Fa rilevare come nella pratica in generale, piuttosto che aggredire direttamente la ferita uretrale e provvedere in qualche modo alla sua scontinuità, si preferisce di praticare il cateterismo e la puntura ipogastrica perchè più semplice e più facile; ma così facendo si lascia la ferita uretrale cicatrizzare in un tempo maggiore, per cui la cicatrice che ne risulta è un vero e proprio anello largo fibroso che col tempo non può che produrre in quel punto un sicuro e forte restringimento.

Per evitare tali tristi conseguenze occorrerebbe che il paziente metodicamente si passasse una candeletta; ma spesso i consigli del medico non vengono ascoltati o nella massima parte dei casi per ragioni particolari inerenti alla professione (militari, commercianti ecc.) non possono essere seguiti ed allora si va incontro alla sicura formazione di ristringimento uretrale cicatrizziale spesso ribelle alle ordinarie cure per il quale occorre intervenire con atti operativi speciali.

A conferma di quanto ha detto innanzi riporta bene a proposito la storia clinica di un giovane di 17 anni, il quale nel 1890, cadde a cavalcioni di una sbarra di ferro, battendo violentemente il perineo, riportando una rottura uretrale, e nel quale fu praticata una siringatura da un medico 30 ore dopo l'accidente. Migliorò e stette discretamente per 3 o 4 mesi, dopo il qual termine fu colto da iscuria per restringimento cicatrizziale dell'uretra, per cui fu sottoposto da un abile chirurgo ad una uretrotomia esterna, però senza risultato, per cui il paziente ritornò nelle condizioni di prima.

Nel 1891 fu ricoverato in Clinica chirurgica, e riusciti inutili i tentativi di ricerca del restringimento dalle vie naturali, gli fu praticata l'uretrotomia esterna dal Prof. Colzi. Però mentre si ritrovò facilmente il moncone uretrale periferico, che era fissato alla branca ascendente dell'ischio sinistro, non si potè ritrovare il moncone centrale, per cui fu praticato un taglio ipogastrico e cateterismo retrogrado. Il moncone posteriore dell'uretra era fissato alla branca montante dell'ischio destro. Gli venne messo una siringa a permanenza e messo in contatto i monconi uretrali, vennero suturati. Guarì completamente. Presentemente (10 anni dopo) sta bene, benchè abbia completamente trascurato di farsi passare la candeletta come gli era stato raccomandato.

Con questo caso l'A. vuol dimostrare come il semplice cateterismo, non è sufficiente alla cura di siffatte lesioni se a queste non si fa seguire una cura metodica consistente nel passaggio ad intervalli fissi di candelette per impedire la formazione di un restringimento e mantenere sempre eguale il calibrio uretrale; raccomanda invece l'incisione perineale, la quale permette di aggredire direttamente la ferita uretrale e provvedere alle sue scontinuità.

L'incisione perineale impedisce i possibili infiltramenti orinosi, e permette di ricercare subito i capi uretrali, per mettervi una siringa a permanenza; sulla guida di questa si possono riavvicinare tra loro i monconi uretrali e suturali, per potere ottenere una riunione di prima intenzione, che possa meglio garantire il paziente da ulteriori e sicuri restringimenti uretrali.

L'A. afferma che potendo ottenere una riunione per prima della ferita uretrale, si ha, non una cicatrice larga fibrosa, ma invece una cicatrice circolare, lineare, sottilissima, la quale può anche scomparire senza lasciare alcuna traccia.

A conferma di ciò riporta un altro caso, osservato nel 1897 in Clinica chirurgica, di traumatismo dell'uretra della regione perineale; ricorda che essendo rimasti infruttuosi i tentativi di cateterismo, fu praticata dal Prof. Colzi una incisione perineale per provvedere all'emostasia e alla ricerca dei monconi uretrali che furono suturati sulla guida di una siringa che fu mantenuta a permanenza per 12 giorni. Il malato guarì completamente e presentemente gode ottima salute, nonostante che non si sia mai più fatto siringare.

L'A. inoltre ricorda che essendo capitato alla sua osservazione un caso di rottura traumatica dell'uretra perineale, nell'agosto 1900, nel II° Turno Chirurgico di S. M. Nuova, allorquando in qualità di Supplente dirigeva tale turno, ed edotto dai risultati ottenuti dal suo maestro in simili casi, volle seguire la medesina condotta, ottenendo ottimo risultato; ed è perciò che unisce questo caso da lui operato ai due primi citati, sia per dare una prova di più a favore di quanto innanzi ha detto, sia per portare a semplice titolo di casistica un modesto e personale contributo clinico alla cura di questi accidenti.

Il caso osservato dall'A. riguarda un bambino di 12 anni il quale il 9 agosto 1900 cadde da un carro a cavalcioni ad una ruota, battendo violentemente la regione perineale. Essendovi impossibilità assoluta di minzione, praticò un'incisione perineale 4 giorni dopo l'avvenuto traumatismo giacchè fino allora i parenti rifiutarono qualsiasi intervento chirurgico. Fece un'incisione lunga 6 cm. sulla linea mediana dello scroto fino ad 1 cm. dall'ano.

La rottura dell'uretra era completa e trasversale. La ricerca del moncone posteriore fu difficilissima e trovatolo introdusse in vescica una siringa e mantenendola fissa in quella posizione, infilò l'altra estremità (sprovvista della sua ghiera ossea) nell'uretra pubica, praticando il cateterismo retrogrado di questa e facendo risortire la siringa dal meato neutrale. Sulla guida della siringa riavvicinò i monconi uretrali e li fissò tra loro mediante tre punti di sutura con seta sottile, comprendenti a tutto spessore la parete uretrale. Mantenne la siringa a permanenza per 12 giorni.

Ricorda che ha avuto occasione poco tempo fa di esaminare il bambino ed assicura che il getto dell'orine come anche l'uretra sono di calibro normale, benchè il bambino non si sia fatto più siringare da che andò via dall'ospedale.

L'A. ricorda che mentre egli ha dimostrato clinicamente l'utilità della sutura immediata nei traumatismi uretrali, il Kaufmann l'ha dimostrata sperimentalmente nei cani nei quali 3 settimane dopo l'operazione il tessuto cicatriziale che risultava dalla sutura non formava più che una piccola rilevatezza insignificante; la cicatrice era cortissima e non era da confrontarsi con quelle callosità che si osservano sulle rotture uretrali guarite spontaneamente.

Riguardo alla tecnica dice, che se vi è spappolamento dell'uretra si consiglia di regolarizzare i margini dei capi uretrali prima di avvicinarli e suturarli. Può adoperarsi seta o catgut e occorre lasciare da 8 a 12 giorni la siringa a permanenza, cambiandola se è necessario.

I punti di sutura devono comprendere a tutto spessore la parete uretrale e non i tessuti peri-uretrali come da alcuni si consiglia.

Ha voluto riferire questi casi clinici di rotture uretrali trattati con la sutura immediata:

1° perchè nella letteratura non si trova che un numero molto limitato di questi casi;

2° perchè molti chirurgi giudicano la sutura dell'uretra, non solo inutile, ma anche dannosa.

**Livini Dott. Ferdinando.** — *A proposito di una nuova classificazione delle ghiandole proposta dal prof. G. Paladino.*

In una recente pubblicazione il prof. *G. Paladino* propone una nuova classificazione delle ghiandole. Egli così le distingue:

1° Gruppo: Ghiandole a fondo archiblastico (tutte le ghiandole a base epiteliale).

2° Gruppo: Ghiandole a fondo parablastico

3° Gruppo: Ghiandole miste, costituite cioè per la concorrenza dell'elemento archiblastico e di quello parablastico (timo).

L'O. espone le ragioni per le quali secondo lui, non si può accettare questa classificazione e solo il 1° dei tre gruppi ha ragione di sussistere. Di questo 1° gruppo il *Paladino* fa la seguente suddivisione: *ghiandole a tipo rientrante*; *ghiandole a tipo sporgente; superfici liscie ghiandolari.* A questo proposito l'O. mette in rilievo come gli esempi che il *Paladino* riporta di ghiandole a tipo sporgente e di superfici liscie ghiandolari, non sieno state scelte opportunamente; così ad esempio non è giusto, secondo l'O., considerare come ghiandole le frange delle sinoviali delle grandi articolazioni, perchè, secondo recenti ricerche, manca alla superficie delle sinoviali un rivestimento epiteliale (endoteliale). Lo stesso vale per i villi intestinali se si vuol ritenerli come tali in quanto framezzo alle cellule comuni sono intercalate cellule mucipare.

**Bottazzi Dott. Filippo.** — *Sulle proprietà fisiche e fisiologiche di alcune membrane fatte di cellule viventi.*

Ogni membrana vivente fatta di cellule possiede quelle proprietà fisico-chimiche che si addicono all'ufficio che la membrana stessa deve compiere nell'organismo. Le proprietà d'una membrana non possono *a priori* essere attribuite ad un'altra membrana. Soltanto l'esperimento diretto, specialmente sulla membrana isolata dal resto del corpo, e non protratto troppo a lungo, può decidere in proposito.

Per quanto finora si sa, possiamo classificare le membrane viventi fatte di cellule nel seguente modo:

A) *Membrane non dotate di proprietà assorbenti specifiche.* Per lo più, sono costituite, nell'animale adulto, da epitelii appiattiti.

1) *Membrane impermeabili, se bene umide, anche ai gas* ($O^2$): membrana della vescica natatoria dei pesci, nel cui interno si può trovare $O^2$ ad una tensione parziale differente da quella che lo stesso gaz ha nel sangue.

2) *Membrane assolutamente impermeabili all' acqua non che ai cristalloidi in essa disciolti, e permeabili soltanto ai gas:* membrana branchiale dei pesci ossei marini e d'acqua dolce (*Bottazzi*); membrana della vescica orinaria dei mammiferi (*O. Cohnheim*).

3) *Membrane semipermeabili (più o meno perfette):* membrana del tubo digerente delle Aplisie (*Bottazzi* ed *Enriques*); vescicole polmonari del cane (*Carrara*); [membrana di *Bowman* dell'apparato glomerulare dei reni]. Quando queste membrane incominciano ad alterarsi incominciano anche a trasformarsi in membrane di diffusione.

4) *Membrane dializzatrici*, ossia impermeabili soltanto ai colloidi: secondo alcuni, la membrana di *Bowman*, che lascerebbe passare, oltre all' acqua, anche i sali minerali dell'orina.

5) *Membrane di diffusione:* capillari sanguigni; membrana peritoneale, e le altre membrane sierose: tubo digerente degli echinodermi (*O. Cohnheim*) [?]. Il passaggio di liquido e di materiali (cristalloidi e colloidi) in esso disciolti dipende molto dalla pressione idrostatica dominante da un lato della membrana. L'alterazione di alcune di queste membrane ha per conseguenza il passaggio in maggior copia di colloidi e di elementi formati (eritrociti, linfociti).

B) *Membrane specificamente assorbenti e secernenti.*

In queste membrane una o più delle proprietà fisico-chimiche su dette vanno accoppiate col potere specifico delle cellule, che le costituiscono, di assumere materiali da una parte, modificarli più o meno nel loro interno, e versare i prodotti di questa modificazione dall'altra parte. Il coincidere di proprietà fisico-chimiche e fisiologiche rende difficili e non del tutto sicuri gli esperimenti su queste membrane; cioè, è difficile sceverare quanto è dovuto alle proprietà fisico-chimiche e quanto alle proprietà fisiologiche della membrana.

Le cellule di queste membrane sono cilindriche, più o meno allungate, e sempre funzionalmente polarizzate, nel senso che sempre da una parte assorbono e per l'altra emettono il materiale assorbito modificato o no. Il materiale modificato dicesi secreto (enzimatico o no). A questa polarizzazione dinamica corrisponde per lo più una polarizzazione morfologica, giacchè è stato visto che il nucleo trovasi per lo più presso la parte ove si compiono mutazioni chimiche di carattere anabolico, il centrosoma (dove esiste) presso la parte ove si compiono mutazioni chimiche di catabolico.

1) *Membrane assorbenti dall' esterno e secernenti verso il sangue:* epitelio del tubo intestinale.

2) *Membrane assorbenti dal sangue e secernenti verso l' esterno:* epitelio delle varie ghiandole a secrezione esterna (gh. mammarie, salivari, gastriche, ecc.). Probabilmente qui va noverato anche l'epitelio dei tuboli renali.

3) *Membrane assorbenti dal sangue e secernenti verso il sangue:* epitelio delle varie ghiandole a secrezione interna (gh. tiroide, ecc.).

4) *Membrane assorbenti dal sangue e secernenti simultaneamente verso l'esterno e verso il sangue:* ghiandole a secrezione esterna ed interna, per es. epitelio dei tuboli epatici. Queste ghiandole a doppia secrezione probabilmente sono più numerose di quanto ora supponiamo.

La sostanza cementante le cellule epiteliali delle membrane viventi probabilmente è permeabile oltre che all'acqua anche ai cristalloidi.

L'esistenza di spazii piccolissimi fra le cellule deve rendere possibile il passaggio anche a materie colloidi. Questi due fatti, comuni a tutte le membrane delle due classi, sdiegano perchè i risultati degli esperimenti non sono mai affatto puri, perchè per es. una membrana così detta semipermeabile non lo è mai perfettamente.

Mi rimane a dire che cosa io supponga sotto il nome di *potere assorbente* delle cellule delle membrane della seconda classe. Non certamente una forza speciale vitale, non fisica nè chimica! A questo proposito poco si sa di sicuro. Ma l'ipotesi più verosibile mi sembra la seguente:

Le cellule assorbono, perchè il loro protoplasma può entrare in labili combinazioni chimiche coi materiali disciolti che debbono essere assorbiti. Questa combinazione è transitoria. Nelle cellule i materiali assorbiti vengono modificati (peptoni, saponi). I prodotti della modificazione passano oltre. Il protoplasma torna nelle condizioni di poter fissare nuovo materiale (assorbire) dall'esterno. A spiegare il passaggio dei prodotti elaborati dalle cellule gran conto bisogna fare della corrente circolatoria (linfatica e sanguigna), che spazza via quei prodotti, e del potere che hanno i varii organi e tessuti di togliere al sangue i materiali di cui s'è caricato. Meno facile è spiegare così l'assorbimento dello zucchero e dei sali minerali. Tuttavia possiamo ammettere, per il primo, la formazione nelle cellule di corpi analoghi ai glicoproteidi; quanto ai secondi, sappiamo bene che esistono labili combinazioni salinoproteiche. *L'assorbimento diventerebbe così un' operazione chimica.*

S'aggiunga che, impoverito per questo processo il contenuto intestinale dei materiali disciolti, il solvente (acqua) potrebbe passare al di là della membrana per semplice osmosi.

Segue una discussione su queste due ultime comunicazioni, alla quale prendono parte i soci **Banti, Chiarugi, Lustig, Pieraccini.**

*Il Vice-segretario degli Atti*
C. Comba.

Domenico Cesare Bartolini, *Responsabile.*

(Dall'Istituto fisiologico e dalla Clinica medica generale di Firenze).

# CONTRIBUTI ALLA CONOSCENZA DELLA FUNZIONE DEI RENI.

## I.

### Di alcune modificazioni del sangue e dell'orina dei nefritici.

RICERCHE

DEI DOTTORI

**FIL. BOTTAZZI** E **GAL. PIERALLINI**

Libero Docente di Fisiologia — Assistente alla Clinica Medica

Non ostante il numero grandissimo di indagini fatte da fisiologi e da patologi, la funzione dei reni rimane sempre un mistero nel suo intimo determinismo. Con ciò non vogliamo dire delle mutazioni fisiche e chimiche che hanno luogo nel protoplasma delle cellule renali durante la secrezione dell'orina, chè, come ebbe a dire il *Kassowitz* (1), ogni nostra conoscenza positiva cessa d'un tratto come noi si giunge alla barriera del protoplasma vivente di qual si sia organo o tessuto. Ma altri non pochi procedimenti meno profondi ci sono ancora ignoti, dei quali rammentiamo qui soltanto alcuni. Dei due apparecchi che più grossolanamente possono esser distinti nel rene d'ogni animale vertebrato, il glomerulare e il tubolare, non sappiamo sicuramente a che serva l'uno, a che l'altro, essendo ormai da tutti ritenute come incomplete le teorie più in voga (2). Non pure ignoriamo il modo onde i varî corpi chi-

(1) M. Kassowitz, *Allgemeine Biologie*, Bd. I, Wien, 1889, Pag. 6.

(2) Compresa quella più recente del *Koranyi*, la quale non risponde alle moderne conoscenze sulle proprietà fisico-chimiche e fisiologiche delle varie membrane viventi, senza dire che manca di fondamento fisiologico. In vano, recentemente, il *Galeotti* (*La Clinica Moderna*, n° 27, Luglio del 1901), andando con le deduzioni oltre la portata degli esperimenti, vi s'accosta e par che la faccia sua. Essa, secondo il nostro modo di vedere, non è sostenibile.

mici organici e anorganici dal sangue passano nell'orina, e la via che battono, ma nè men l'acqua, cioè il solvente di quelli, sappiamo come e per quale parte del rene passi di qua dall'epitelio renale.

Le difficoltà cui si va incontro nello studio della funzione dei reni sono molte, e forse ad esse si deve se sì fatto studio è stato in questi ultimi anni meno alacremente seguìto, che non fosse prima, quando, per opera del *Ludwig* e del *Heidenhain* e dei discepoli di entrambi, furono poste le basi fisiche e fisiologiche delle nostre conoscenze di tale argomento, quelle basi sulle quali in verità non molto alto s'è poi edificato dagli altri.

Comunque sia, noi siamo persuasi che in tale materia le ricerche fisiologiche debbano cercare un valido aiuto nelle ricerche cliniche e patologiche, se si vuol giungere alla meta; non altrimenti che la fisiologia del sistema nervoso centrale deve gran parte delle sue conquiste alla patologia e alla clinica. E la cagione ci sembra la medesima. Nell'uno come nell'altro caso il processo morboso s'addimostra assai più fine scalpello d'ogni altro mosso da mano di sperimentatore. Per dare un esempio, diremo che nessun mezzo noi conosciamo finora capace di sopprimere o alterare la funzione dell'apparecchio glomerulare senza ledere, o ledendo meno, quella dell'apparecchio tubolare, (1) o viceversa; questa separazione dei due apparecchi, se non completa, almeno più o meno tale, non potrebbe esser fatta se non da un processo morboso che colpisse prevalentemente l'uno o l'altro di essi.

Ecco perchè, messici per questa via, noi ci gioveremo del metodo sperimentale e del metodo clinico; incominciando, con questo primo scritto, dal secondo.

## 1. — Notizie bibliografiche.

Non c'indugieremo molto sull'importanza che, specialmente in questi ultimi anni, è stata attribuita al dato crioscopico del

(1) Il mezzo adottato dal *Galeotti* (loc. cit.), dell'avvelenamento con sublimato e con cantaridina, non ci sembra sufficiente. Come si può ammettere che il bicloruro di mercurio sia un veleno « elettivo » per l'epitelio tubolare e la cantaridina per la capsula di *Bowman?*

sangue, come a indice sicuro della pressione osmotica di esso, e sui lavori eseguiti a questo riguardo. Sapendosi [1], come resulta da numerose ricerche, che la pressione osmotica del sangue in condizioni normali è costante, tutte le volte che essa trovasi aumentata, se si può escludere un accumulo di $CO^2$ (o di altri materiali) nel sangue per disturbi respiratorî, si può esser sicuri che la funzione renale è alterata. Tale alterazione ha per effetto un accumulo di cataboliti nel sangue, che dovrebbero essere eliminati per i reni, e quindi un aumento della concentrazione molecolare del sangue stesso. *A. v. Korányi* [2], ha anzi stabilito che, quando $\Delta$ ha un valore superiore a 0,58° C, si può già ammettere un' insufficienza renale.

Tuttavia non si può ritenere come assoluta la cifra del *Korányi*. Bisogna tener presente che il valore di $\Delta$ oscilla spesso, anche in condizioni normali, di più d' un centesimo di grado. Noi ammetteremo esistere insufficienza renale quando $\Delta$ raggiunge o sorpassa la cifra 0,60° C.

Da medici e da chirurgi [3] è stato ormai tante volte constatato il fatto, che nelle lesioni renali la pressione osmotica del sangue aumenta, che la determinazione di questa nelle cliniche è già divenuta un mezzo diagnostico di prim'ordine, anzi si è resa indispensabile. Per ciò, noi tralasciamo ogni citazione bibliografica, in proposito.

Anche dell' urea si sa ormai con sicurezza che, mentre nel sangue normale si trova nella quantità di gr. 0,010 — 0,014 °/₀, pur tenendo conto che tale quantità può triplicarsi (*Picard*) o quadruplicarsi (*Quinquaud*, *Gréhant*) sotto l' influenza dell' alimentazione, tuttavia essa può aumentare di molto nel sangue

---

(1) Fano e Bottazzi, *Sur la pression osmotique du sérum du sang et de la lymphe en differentes conditions de l'organisme.* (Arch. ital. de Biol., XXVI, p. 45-61 1896). Ved. ivi la rimanente bibliografia.

(2) A. v. Korányi, *Bemerkungen zur diagnostischen Verwerthung des Blutgefrierpunktes.* (Berl. Klin. Woch., Bd. XXXVIII, 1901, n° 16, p. 424). Ivi son citate altre pubblicazioni sullo stesso argomento: Waldvogel, (*Deut. med. Woch.*, 1900. n° 46); Thumin (*Berl. klin. Woch.*, 1900, n° 45); Kümmel, (*Münch. med. Woch.*, 1900, n° 44).

(3) Ved. Casper und Richter, *Functionelle Nierendiagnostik mit besonderer Berücksichtigung der Nierenchirurgie. Wien-Berlin.* 1901. — Wiebrecht (*Centr. f. Chir.*, 1900, n° 52). — Illoés (*Annal. d. malad. genito-urin.*, 1900, p. 1283).

dei nefritici. Il *Picard* trovò in undici casi che l'urea variava da gr. 0,128 a gr. 0,150 °/₀; il *Debove* e il *Dreyfus*, al ventunesimo giorno d'un'anuria grave, trovarono nel sangue gr. 0,4 °/₀ d'urea, e il *Quinquaud* il giorno della morte gr. 0,475 °/₀ (¹).

È vero che il procedimento seguito, in tutte queste ricerche di autori francesi, per la determinazione quantitativa dell'urea, era quello del *Gréhant* (²). Ma, se bene il *Quinquaud* (³) abbia trovato che, quando l'urea è in quantità grande nel sangue o negli organi, l'estrazione alcoolica non è mai completa e si ha sempre una perdita leggera d'urea; pure il *Kaufmann* (⁴) recentemente, controllando il procedimento del *Gréhant*, ha veduto che l'errore è sempre piccolissimo. Così che le cifre dianzi citate, se non sono del tutto esatte, certamente esprimono un aumento dell'urea nel sangue degl'individui esaminati, aumento che, del resto, è stato constatato anche da altri, e che è tanto più significante, in quanto che il *von Noorden* e il *Ritter* (⁵) hanno osservato che nella maggior parte dei nefritici l'eliminazione dell'azoto per la via dell'intestino non è nè maggiore nè minore di quella che ha luogo negl'individui sani.

A quelle prime ricerche e determinazioni, altre ne son seguite di osservatori più moderni; ma poi che i resultati ai quali essi sono pervenuti non si scostano da quelli qui sopra ricordati, noi tralasciamo di parlarne diffusamente.

Ciò che, però, non sappiamo sia stato finora fatto da alcuno, si è uno studio sistematico simultaneo, vale a dire eseguito in ciascun singolo infermo, delle modificazioni giornaliere della pressione osmotica del sangue e dell'orina da una parte, e del contenuto in azoto ureico-urico ancora del sangue e dell'orina, dall'altra. Il raffronto dei dati crioscopici

---

(¹) Ved. per questi dati : Charcot et Bouchard, Traité de Médecine. Vol. V, 1895.

(²) Gréhnat et Quinquaud, *Dosage de l'urée dans le sang et dans les muscles.* (C. R.. CVIII, p. 1092). Ved. anche Picard, *Recherches sur l'urée des organes.* (Ibidem, LXXXVII, p. 533 ; 1878).

(³) Quinquaud, *Note sur le dosage de l'urée du sang.* (C. R. Soc. de Biol., 2 Décembre 1893).

(⁴) Kaufmann, *Dosage de l'urée dans le sang.* (C. R. Soc. de Biol., 3 Mars 1895).

(⁵) Cit. dal Mya, Tratt. italiano di Patol. e Terap. medica, Vol. V, p. 80.

con le cifre dell' azoto deve, secondo il nostro modo di vedere, gettar un po' di luce non solo sulla patologia delle nefriti, ma anche sulle proprietà fisiologiche dell' apparato renale, a giudicarne dalle alterazioni che esse subiscono quando gli epitelii renali son lesi.

A questo studio noi ci siamo accinti, guidati dai seguenti concetti.

Sappiamo già che la pressione osmotica del sangue è costante. Questo fatto va inteso nel senso che il sangue rapidamente si depura dei cristalloidi solubili che in esso si riversano incessantemente dai tessuti, quando la funzione dei reni è normale. In tali condizioni, un accumulo di quelli non si verifica, onde la pressione osmotica non cambia mai notevolmente di valore nell' uomo sano. E se nelle vene è iniettata una soluzione salina o d' urea, più concentrata del sangue, questo in poco tempo torna alla sua concentrazione normale. E bene, se nella nefrite la funzione dei reni è alterata, si può supporre che la pressione osmotica del sangue, non fuggevolmente, ma durevolmente sia diversa dalla normale, nel nostro caso propriamente più alta.

La pressione osmotica del sangue è dovuta in massima parte ai sali anorganici, in minor parte all' urea, e agli altri costituenti azotati non proteici, in minima parte allo zucchero e ad altri corpi non azotati e ai proteici che nel sangue si trovano sciolti. Essendo l' urea il corpo solubile che in maggior quantità passa nell' orina, fra i corpi azotati, abbiamo scelto questa, o meglio i corpi azotati non precipitati dal tannino, secondo il procedimento da noi usato, qui sotto descritto, per farne determinazioni quantitative nell' uomo sano e nei nefritici. Anche dell' urea si può dire che la quantità nel sangue è approssimativamente costante, se si esclude il periodo di sei o sette ore susseguenti al pasto più abbondante. Per ciò noi prendemmo il sangue sempre verso le nove antimeridiane, molte ore dopo l' ultimo pasto (della sera), prima del pasto del mezzodì, quando si può credere che l' urea e gli altri cataboliti azotati e non azotati si trovino nel sangue nella quantità che potrebbe dirsi « minima costante ».

Un raffronto del contenuto in azoto ureico-urico del sangue colla pressione osmotica del medesimo, quando le determinazioni siano state fatte nelle condizioni ora dette, deve darci qualche schiarimento sull'accumularsi o meno nel sangue dei corpi azotati da noi esaminati o dei corpi salini anorganici, o degli uni e degli altri. Giacchè, poniamo di trovare alta la cifra dell'azoto e alta anche quella della pressione osmotica totale: diremo che molto probabilmente per i reni passano con difficoltà i corpi azotati e i sali. Poniamo, per contro, che alta sia la cifra dell'azoto e di poco superiore alla normale quella della pressione osmotica: saremo indotti a credere che, mentre v'ha ritenzione dei corpi ureici-urici, i sali minerali passano per i reni assai meno difficilmente. E così via dicendo.

Certamente sarebbe stato bene determinare anche la conduttività elettrica dei nostri liquidi, simultaneamente alla quantità dell'azoto ureico-urico e al punto di congelamento, per avere nelle mani dati, concernenti il contenuto in elettroliti dei nostri liquidi, direttamente ottenuti, non ricavati per via di calcoli più o meno ingegnosi, come spesso malamente si suol fare da Autori, nei cui lavori alla speciosità delle formole e delle tabelle corrisponde un esiguo numero di dati d'osservazione. Ma, per ora, ci è stato impossibile fare tali determinazioni.

L'esame dell'orina può dare resultati meno sicuri, e se ne comprende agevolmente il motivo. L'azoto totale ureico-urico in essa contenuto non dipende soltanto dallo stato dei reni, ma anche dalla quantità che se ne introduce nell'organismo. Il contenuto in azoto *per mille* dipende, inoltre, dalla quantità di acqua che passa per i reni, quantità che dipende, a sua volta, non solo da quella introdotta, ma anche dallo stato dei reni e dalla pressione del sangue.

Similmente si può ragionare a proposito della pressione osmotica dell'orina: gli stessi fattori v'influiscono. Si sa che l'orina di individuo normale ha una concentrazione superiore almeno del doppio a quella del sangue, in media. Il trovarla minore è un indizio di alterata funzione renale soltanto quando l'infermo non ha bevuto molta acqua o latte, ammesso che

l'acqua possa passare per i reni liberamente, o che non abbia assorbito troppo poco alimento. Chè se v'hanno edemi per il corpo, ecco un altro fattore che concorre a rendere più complessa la ricerca. Infatti i liquidi degli edemi, se bene abbiano, come recentemente ha trovato il *Baylac* (¹), composizione chimica, proprietà tossiche, punto di congelamento e tensione superficiale presso che costanti, pure essi contengono sempre una parte dell'urea e dei sali minerali che altrimenti sarebbero passati nell'orina.

Tuttavia, tenendo conto delle molte cause che concorrono a rendere difficile e mal sicura l'interpretazione dei valori dell'azoto e della pressione osmotica, e sopra a tutto esaminando queste cause in ciascun caso, qualche significato acquistano le cifre ottenute, e di qualche utilità può essere il raffronto dell'uno con l'altro valore della stessa orina in giorni successivi, e dei due valori con i valori corrispondenti del sangue dello stesso individuo.

Ricorderemo un'ultima ragione, perchè i resultati che si ottengono seguendo il nostro metodo sono meno soddisfacenti di quanto c'impromettemmo, ed è che, sia per sentimento di umanità dal canto nostro, sia perchè gl'infermi sono spesso riottosi, più di due o tre volte non si può toglier sangue a un medesimo nefritico che non soffra d'accessi uremici, mentre sarebbe desiderabile che l'esame del sangue andasse sempre parallelamente all'esame dell'orina, tanto per quel che concerne l'azoto, quanto per la pressione osmotica. Invece, in qualcuno dei nostri casi, per sette o più esami consecutivi d'orina non abbiamo potuto fare se non uno o due, raramente tre esami del sangue.

Se non che, le nefriti essendo disgraziatamente tanto frequenti, e d'ogni specie, là dove fa difetto l'esame continuato del sangue e dell'orina d'uno stesso individuo può supplire, in qualche modo, il gran numero d'infermi sui quali possiamo portare le nostre indagini. E noi infatti abbiamo in mente di

---

(¹) J. Baylac, *Composition chimique des liquides d'oedèmes.* (C. R. Soc. de Biol., 18 mai 1901, pag. 519). — Idem, *Cryoscopie des liquides d'oedèmes.* (Ibidem, pag. 521).

proseguirle su altri nefritici, prossimamente, e di ripeterle su animali, nei quali sperimentalmente faremo lesioni renali.

Intanto, crediamo opportuno di pubblicare queste prime ricerche, e stabilire con esse, quanto abbiam potuto ottenere di quel che ci aspettavamo dal metodo da noi seguìto.

Vogliamo però, prima, ancora avvertire che queste nostre indagini non poterono dare altro se non resultati quantitativi, cioè concernenti il valore quantitativo dell'abnorme aumento del contenuto in azoto e della pressione osmotica del sangue e dell'abnorme diminuzione di tale contenuto e di tal pressione dell'orina. Nulla quelle indagini ci diranno della qualità dei corpi eventualmente accumulatisi nel sangue durante gli accessi uremici o in altri stati nefritici. E pure il problema sempre oscuro di quell'insieme di fenomeni prevalentemente, ma non esclusivamente, nervosi, che dicesi con termine assai improprio « uremia », già che forse l'urea è fra i corpi meno nocivi che s'accumulano nel sangue, non s'avvicinerà a una soluzione soddisfacente, se non quando si farà un esame qualitativo del sangue e dei succhi organici, raccolti durante l'« accesso uremico ».

## 2. — Metodo.

Abbiamo determinato l'abbassamento del punto di congelamento del sangue, o siero, e dell'orina, e il contenuto in azoto non proteico degli stessi liquidi. Ma prima di dire dei procedimenti seguiti, è necessario esporre come ci siamo procurati il sangue e l'orina da esaminare.

Il sangue veniva aspirato da una vena del braccio mediante un grande tubo di vetro, della capacità di 25-30 $cm^3$, a una delle estremità del quale era stato saldato, alla fiamma, un ago-cannula ordinario, che al momento opportuno veniva introdotto nella vena. Una spirale metallica scorreva liberamente nel tubo, e un pezzo diritto del filo metallico sporgeva dall'estremità libera, attraversando un turacciolo di sughero che serviva a chiudere ermeticamente l'apertura di detta estremità. L'intero apparecchio veniva sterilizzato a 130°,

prima di servircene. Aspirato il sangue, questo veniva rapidamente defibrinato, mediante la spirale metallica, entro lo stesso tubo di vetro; e, terminata la defibrinazione, venivano ermeticamente chiuse le due aperture dell'apparecchio, tanto quella dell'ago quanto l'altra più grande, con paraffina, fino al momento dell'esame del sangue. È quasi superfluo aggiungere che anche la superficie cutanea dell'infermo era accuratamente nettata. Per quanto riguarda la ricerca della vena e l'introduzione dell'ago nel lume della medesima, il più spesso bastava comprimere in alto il tronco venoso, per renderlo in basso più turgido e appariscente.

Se il sangue così ottenuto era scarso, lo si utilizzava prima per la determinazione del punto di congelamento, e poi se ne misuravano con una pipetta 10 $cm^3$, nei quali si faceva la determinazione dell'azoto. Se il sangue era in maggior copia, lo si divideva in due porzioni, per le due distinte determinazioni.

Talora fu anche possibile centrifugare tutto il sangue, e fare ambedue le determinazioni sul siero, o farle comparativamente sul sangue totale e sul siero del medesimo.

L'orina delle ventiquattro ore (dalle 9 di un giorno alle 9 del giorno susseguente) era raccolta in vasi chiusi con tappi smerigliati, a fine d'evitare l'evaporazione, e debitamente puliti. In alcuni casi fu separata l'orina del giorno da quella della notte, come si vedrà nelle tabelle. Terminate le ventiquattro ore, si misurava il volume totale dell'orina, e il volume di quella del giorno e di quella della notte; si facevano gli esami ordinarii, per conoscerne la reazione alle carte, la densità, e il contenuto approssimativo in albumina (albuminometro dell'*Essbach*). In alcuni casi, un alunno interno della Clinica, fece anche determinazioni quantitative dell'urea seguendo il procedimento ordinario mediante l'ipobromito. Noi ci siamo anche avvalsi di questi dati, riguardanti l'urea, ma dobbiamo notare che non possiamo garantirne l'esattezza, sia per il procedimento secondo cui furono fatte, sia perchè non furono fatte da noi, nè sotto la nostra guida.

Di una porzione dell'orina, conservata espressamente in

boccetta ben chiusa, veniva determinato il punto di congelamento, e di un'altra porzione nota il contenuto in azoto non proteico.

Nelle determinazioni crioscopiche ci siamo giovati del noto apparecchio del *Beckmann*, e d'un termometro sul quale, mediante una lente d'ingrandimento, potevasi benissimo suddividere lo spazio, compreso fra due delle lineette trasversali esprimenti i centesimi di grado, ancora in cinque parti, idealmente, e tener conto così, con sufficiente precisione, anche dei millesimi di grado. Abbiamo creduto superfluo adoperare un cannocchiale fisso, con scala micrometrica. Usare simili ed altri perfezionamenti tecnici in determinazioni che, per sè stesse, vanno soggette a errori di più d'un centesimo di grado, val quanto fraintendere il significato delle ricerche biologiche eseguite nelle usuali condizioni e coi mezzi di cui disponiamo e nei limiti che finora ci sono concessi.

L'agitazione del liquido nel tubo era fatta a mano, ma incessantemente e con ritmo mediocremente uniforme. Il liquido era precedentemente raffreddato quasi a 0° C nello stesso tubo, prima d'introdurvi il termometro, il cui bulbo era sempre del tutto immerso. La temperatura del miscuglio frigorifero (ghiaccio tritato e cloruro sodico) rare volte fu superiore a — 3° o — 5° C. Lo zero del termometro, che da principio veniva determinato ogni tre o quattro giorni, poi fu determinato ogni giorno, avanti le ricerche, e talora anche alla fine delle medesime, nel qual caso fu tenuto conto della media delle due determinazioni.

Evitammo quasi sempre di tenere i liquidi a lungo avanti di esaminarli; ma quando ciò fu inevitabile, essi furono conservati in luogo fresco o in ghiaccio, e sempre in vasi perfettamente chiusi. Per quanto riguarda l'orina non abbiamo da dire nulla di speciale. Riguardo al sangue, ci è sembrato puerile quanto è stato da alcuno recentemente consigliato, di ossigenare il sangue, prima di determinarne il punto di congelamento, agitandolo nel vaso in cui è conservato. Non è forse più che sufficiente l'agitazione che esso subisce per tutto il tempo che dura la determinazione crioscopica? Alla fine di questa

il sangue nel tubo non è sempre rutilante? Ogni manipolazione precedente, a fine di scacciare l'anidride carbonica, che per sè sola causerebbe un maggiore abbassamento del punto di congelamento, è dunque superflua, come dicemmo.

Per eliminare dal sangue e dal siero di sangue e dall' orina i corpi proteici e alcuni degli altri corpi azotati, ma non proteici, ci siamo giovati del tannino. Riproduciamo qui, quasi integralmente, una comunicazione fatta da uno (1) di noi all' Accademia medico-fisica di Firenze, perchè contiene non solo la descrizione particolareggiata del procedimento, ma anche considerazioni sui vantaggi di esso in confronto di procedimenti consimili.

« Mi sembra che il tannino non sia tenuto nel conto che merita e non sia usato su larga scala quando si vuole liberare un liquido dai corpi proteici. I liquidi che più spesso si ha bisogno di dealbumizzare sono il sangue, o il siero di sangue, e l'orina. Ebbene in questi casi il tannino in soluzione concentrata e poi filtrata, rende ottimi servizi.

La detta soluzione di tannino, di colore oscuro, rimane per lungo tempo inalterata, ed è priva di corpi azotati (specialmente se il tannino era puro, come lo fornisce a tale scopo la casa Merck), perchè nella soluzione stessa esso precipita i corpi azotati, di cui può essere inquinato.

Tuttavia è bene preparare, quando ci si dispone a fare una serie di ricerche, una quantità considerevole di soluzione, per es. un litro, e assicurarsi due, tre, quattro volte, in 10 cm³ di essa soluzione, se c' è azoto, col metodo del *Kjeldahl*. In tutte le analisi che si faranno con tale soluzione si terrà conto del volume di soluzione di tannino impiegato per ogni precipitazione.

Per non aggiungere un grande eccesso di soluzione di tannino, è bene determinare avanti quanta ne è necessaria per dealbumizzare il liquido che si esamina (sangue, siero di sangue, linfa, orina, ecc.) completamente. Tuttavia è bene

(1) Fil. Bottazzi. Del Tannino come mezzo per dealbuminizzare i liquidi organici (Resoconti dell'Accad. medico-fisica fiorentina, adunanza del 12 giugno 1901. Lo Sperimentale, vol. LV, fasc. 3°, pag. 463; 1901).

aggiungerne sempre un piccolo eccesso, considerando le possibili variazioni del contenuto proteico del liquido in esame.

Il tannino precipita tutti i corpi proteici, nessuno eccettuato, i corpi alcaloidici, e tutti i corpi purinici, ossia derivanti dalla scissione dell'acido nucleinico. Rimangono disciolti, e passano nel filtrato, se si ha la cura di lavar bene sul filtro il precipitato con acqua distillata, l'urea, gli urati e la creatinina.

Quasi le stesse proprietà di precipitazione possiede l'acido fosfowolframico in presenza d'acido cloridrico (*Pflüger*, *Gumlich*). Ma, in primo luogo, è un materiale assai più caro del tannino, e poi l'aggiunta dell'acido cloridrico può esser nociva, perchè esso precipita l'acido urico. Si aggiunga che non è facile avere dell'acido fosfowolframico del tutto privo di N, e che recentemente *Chassevant* ha mostrato che esso precipita in cristalli l'urea dalle soluzioni 2 per 100. Invece il tannino non precipita nemmeno le uree composte (benzilurea, difenilurea, ecc.), come ha dimostrato *Oechsner de Coninck* (1).

Il joduro mercuro-potassico presenta, fra gli altri, l'inconveniente dello sviluppo dello J, nella susseguente ossidazione del filtrato.

L'urea e gli urati contengono principalmente l'N nei prodotti del catabolismo dei tessuti viventi; e sono questi due corpi che noi vogliamo più spesso determinare.

Se si vuole dunque determinare l'N totale ureico e urico delle 24 ore nell'orina, basta fare una determinazione di N, col metodo del *Kjeldahl*, nel filtrato che si ottiene dopo la precipitazione con tannino, e si è sicuri che nè tracce di corpi proteici, (ciò che più interessa in orine patologiche) nè alcun altro dei corpi azotati che più ordinariamente trovansi nel sangue e nell'orina hanno contribuito a dare quell'azoto, eccetto l'urea, gli urati e fors'anche la creatinina e qualche sale d'ammoniaca.

Io mi sono assicurato che questi corpi non sono precipitati dal tannino, aggiunto, anche in *eccesso*, a soluzioni concentrate a caldo dei medesimi.

---

(1) C. R. Acad. de France, tom. CXXIV, pag. 563 ecc.

Si è detto (*Girgensohn*) che bisogna che il liquido contenga del cloruro sodico perchè la precipitazione prodotta dal tannino resulti completa. A me pare che questo bisogno non esista, almeno adoperando soluzioni concentrate di tannino, quando si tratta di liquidi che normalmente contengono un poco di cloruro sodico. L' aggiunta di questo sale, del resto, è pericolosa, perchè esso precipita il tannino stesso dalle sue soluzioni.

S' è detto che bisogna acidificare i liquidi, prima d' aggiungere il tannino. Anche questo mi sembra inutile, perchè la soluzione di tannino è di per sè acida, e l'aggiunta di un acido minerale, nel caso dell'orina, può operare la scissione degli urati e la precipitazione dell'acido urico; ed inutile specialmente quando nei liquidi in esame non esistono alcali liberi.

Si comprende che le determinazioni di N nell' orina trattata col tannino debbano dare una quantità di N $^0/_{00}$ e *pro die*, inferiore a quella che si trova dealbuminizzando l' orina con altri mezzi o, peggio, analizzandola tale e quale viene eliminata. La mia orina, che credo normale, ha dato i seguenti risultati:

Ossidata (10 cm$^3$), senz' altro trattamento, con 10 cm$^3$ d'acido solforico e un poco d'ossido di mercurio, ha dato 11,34 $^0/_{00}$ di N.

Trattata (10 cm$^3$) con il reattivo di *Brücke* (acido cloridrico e soluzione di joduro mercuro-potassico), che è pure un energico precipitante, e poi ossidata nello stesso modo, ha dato 11,29 $^0/_{00}$ di N.

Finalmente, trattata con un volume eguale di (10 cm$^3$) di soluzione concentrata di tannino, ha dato 10,5 $^0/_{00}$ di N. Questo N rappresenta circa il 92 $^0/_0$ dell' N totale.

È chiaro che si può anche raccogliere e disseccare il precipitato e determinarvi l' azoto col metodo del *Kjeldahl*, e avere così, con una sola precipitazione, due dati importantissimi nelle orine patologiche: l' N ureico-urico da una parte, e l' N, e quindi l'albumina, e gli altri corpi azotati in minor quantità rispetto ad essa, dall' altra.

Non esistendo già dati relativi al contenuto in N del sangue e del siero di sangue trattati nel modo dianzi detto, ossia riguardanti l'insieme dell'N urico e ureico, nè per gli animali nè per l'uomo, il dott. *Pierallini* ed io abbiamo dovuto procurarceli, essendoci indispensabili per le ricerche che avevamo in mente di fare sui nefritici.

Però prima d'annunciare i resultati ottenuti in proposito, desidero far notare che volendo calcolare la cifra dell'azoto trovato in ciascun caso come urea, si può moltiplicarla per 2,14 (perchè l'urea contiene il 46,6 % d'azoto). Ma nel nostro caso, sia che si tratti del sangue o dell'orina, non si può esprimere la cifra dell'azoto come urea, perchè nel filtrato in cui noi determiniamo l'azoto si trovano insieme e l'urea e l'acido urico e la creatinina. Perciò io propongo di distinguere, convenzionalmente e per brevità, l'N da noi determinato col nome di *N ureico-urico.*

La seguente tabella rappresenta i resultati ottenuti col sangue di pollo, di coniglio, di cane e col sangue preso dal funicolo ombelicale immediatamente dopo il taglio di questo.

| Animali | Numero dei casi | N urico-ureico ‰ del sangue | N urico-ureico ‰ del siero | Δ | Annotazioni |
|---|---|---|---|---|---|
| Pollo ..... | 1 | 0,69 | 0,75 | — | Sangue misto di più individui (polli) e di anatra ottenuto per decapitazione. |
| | » | 0,65 | 0,77 | — | |
| Coniglio .. | 1 | 0,48 | 0,63 | — | Sangue preso dalla carotide. |
| | » | — | 0,62 | — | Idem. |
| Cavallo . | 1 | 0,34 | 0,41 | — | Sangue ottenuto per salasso. |
| | » | — | 0,47 | — | Idem. |
| Cane ..... | 1 | — | 0,55 | — | Normale. |
| | » | — | 0,55 | — | Idem. |
| | » | — | 0,48 | — | Idem. |
| | 2 | 0,58 | 0,69 | — | Dopo 5 giorni di digiuno. |
| | » | 0,61 | 0,83 | — | Idem. |
| | 3 | — | 0,76 | — | Dopo altri 2 giorni di digiuno. |
| | » | — | 0,79 | — | Idem. |
| Uomo..... | 1 | 0,41 | — | 0,552 | Precipitato con tannino. |
| | » | 0,36 | — | 0,558 | Precipitato con acido fosfowolfram. |
| Sangue del funicolo. | 1 | 0,36 | — | 0,542 | Precipitato con tannino. |
| | » | 0,45 | — | 0,538 | |
| | 2 | 0,39 | — | 0,515 | Precipitato con tannino. |
| | » | 0,39 | — | — | |
| | 3 | 0,49 | — | 0,510 | Prec. con HCl e Jod. mercuro-potas. |
| | » | 0,46 | — | — | Precipitato con tannino. |

Dalle cifre contenute nella tabella resultano i seguenti fatti :

1) Che, a parità di volumi, l'N del sangue, è minore di quello del siero. Se l'N da noi determinato fosse esclusivamente ureico, questo resultato sarebbe inverosimile, sapendosi [1] che, nel sangue dei mammiferi, l'urea è egualmente distribuita nel plasma e nei corpuscoli rossi. Bisogna dunque ammettere

[1] B. Schöndorff, *Die Harnstoffverteilung im Blute auf Blutkörperchen und Blutserum.* (Pflüger's Arch., LXIII, pag. 192). Ved. anche: (Bd. LXII, pag. 1 e 332).

che questo azoto rappresenti anche l'azoto degli urati, e forse anche della creatinina e dei sali ammoniacali per i quali i corpuscoli rossi non sono permeabili, o almeno non lo sono in egual grado.

2) Che, esclusi i valori dell'N trovati nel cane tenuto digiuno, il pollo è l'animale il cui sangue presenta un contenuto in N urico-(ureico) superiore a quello degli altri, e il cavallo e l'uomo quelli che presentano il più basso valore di N. Tuttavia, generalmente considerati, i valori trovati non differiscono di molto gli uni dagli altri, tanto che si potrebbe quasi concludere, che il contenuto del sangue in N urico-ureico è pressochè costante, in condizioni normali, negli animali superiori.

Vedremo, però, come questi valori si modificano considerevolmente nell'uomo malato.

3) Finalmente che, nel digiuno protratto, l'azoto da noi determinato aumenta di poco. Non crediamo che la concentrazione del sangue abbia la maggiore influenza in ciò: ma piuttosto il fatto può essere anche dovuto alle modificazioni del metabolismo che l'organismo subisce allo stato digiuno.

4) Del sangue di uomo e donna normali fu determinato anche il punto di congelamento. Le determinazioni dettero valori normali; se bene un poco troppo bassi per il sangue del funicolo, ciò che conferma quanto hanno recentemente osservato *Krönig* e *Fueth* (1). Queste determinazioni sono state fatte allo scopo di stabilire il rapporto normale fra i valori di Δ e di N urico-ureico nel sangue umano ».

## 3. — Notizie cliniche concernenti i casi da noi investigati.

Crediamo utile riassumere brevemente le « storie cliniche » degl' infermi, dei quali potemmo finora prendere in esame

(1) Krönig e Fueth, *Vergleichende Untersuchungen über den osmotischen Druck im mütterl. und kindl. Blute.* (Monatsschr. f. Geb. und Gyn., Bd. XIII, 1901, pag. 39 e 177). Noi non abbiamo però mai trovato valori così bassi come quelli annunciati dai su detti Autori.

il sangue e l'orina; non per dare a questo nostro scritto un carattere più clinico di quel che non comporti, ma a fin che il lettore possa da sè stesso formarsi un'idea della natura e della intensità della lesione renale propria di ciascuno infermo, e quindi valutare meglio i resultati che in fine noi gli metteremo sotto gli occhi, in numeri nella tabella, e in parole più oltre.

I. — *Luigi Nigi*, di anni 43 Entra nella Clinica a di 14 decembre del 1900. Il padre suo fu alcoolista e morì d'apoplessia cerebrale.

All'età di dieci anni soffrì di polmonite, a sedici di anemia con cardiopalmo; fra i sedici e i ventiquattro anni fu colpito due volte da bronchite e da pleurite destra. Nel 1892 soffrì d'influenza, e di nuovo nel febbraio del 1900. Quindici giorni dopo apparvero sintomi di nefrite, diagnosticata sicuramente nel giugno seguente. Per tre mesi osservò dieta lattea rigorosa, di cui si giovò molto. Tornato alle proprie abitudini, di nuovo peggiorò, e in tale stato fu ricoverato nella Clinica. L'esame obiettivo dimostrò un rumor di galoppo, sul cuore. L'orina era emessa in gran quantità, presentava reazione acida, densità 1014; conteneva circa gr. 2,5 ‰ d'albumina, gr. 5,88 ‰ di urea, un sedimento di linfociti e di urati e cilindri jalino-granulosi.

Le condizioni dell'infermo, malgrado la dieta lattea e le diverse cure, rimasero stazionarie per parecchio tempo; finchè nell'aprile comparvero edemi negli arti inferiori.

*Diagnosi.* — *Nefrite parenchimale cronica*, che data da più d'anno, seguente ad influenza. L'infermo prende 3 litri di latte, due uova e un quarto di pollo al giorno.

II. — *Annita Barucci*, di anni 15. Entra nella Clinica il 18 gennaio 1901.

La bambina soffrì di rosolia; a sei anni, di polmonite, e a otto di febbre tifoidea. Circa quattro anni or sono ebbe una parotite, dopo la quale incominciò ad avvertire debolezza alle gambe, dolori ai reni, vertigini e cardiopalmo. Dopo sei mesi cominciarono a manifestarsi degli edemi. Durante la parotite, l'orina era scarsa e oscura, e tale si mantenne fino all'anno scorso (?), epoca in cui l'inferma fu sottoposta a una rigorosa dieta lattea, in seguito alla quale i disturbi diminuirono. Interrotta questa dieta, i disturbi si ripresentarono. In questi ultimi tempi, l'inferma era divenuta più pallida ed emetteva maggior quantità d'orina.

L'inferma presentemente si duole di cefalea e di annebbiamento della vista. Non si osservano edemi alla faccia nè agli arti. Sulla regione del cuore si avverte un soffio sistolico, per tutto.

Il giorno 19 gennaio l'orina presentava i seguenti caratteri: quantità totale in 24 ore cm³ 1500; reazione acida; color giallo pallido. Con-

tiene gr. 3 °/₀₀ di albumina e gr. 8,58 °/₀₀ d'urea. Nel sedimento, si osservano molti linfociti, qualche cellula renale, cilindri jalini e granulosi, cristalli d'acido urico e d'ossalato di calcio.

Il sangue conteneva 2,800,000 eritrociti e 6750 linfociti per mm³ L'emometro dava la cifra emoglobinica 50.

Per tutto il tempo di dimora nella Clinica, la temperatura dell'inferma si mantenne normale. L'orina fu emessa nella quantità oscillante da 1500 e 3000 cm³, conteneva da gr. 2,5 a gr. 3,5 °/₀₀ d'albumina. L'ammalata si dolse sempre di grande debolezza; ma l'appetito si mantenne buono. Prese sempre circa tre litri di latte, due ova e gr. 200 di carne al giorno.

*Diagnosi.* — *Nefrite parenchimale cronica*, che data da quattro anni circa, seguente a parotite.

III. — *Giuseppa Valmori*, di anni 30, senza precedenti morbosi degni di nota. Ha avuto sette gravidanze: la quinta, nel 1898, dovette essere interrotta al settimo mese, perchè la paziente presentava segni di nefrite grave, cioè edemi, disturbi visivi, dolori ai lombi, albumina nelle orine. Essendo rimasta due mesi a dieta lattea rigorosa, si rimise. La sesta gravidanza ebbe un decorso regolare. La settima fu interrotta all'ottavo mese, essendosi ripresentati fenomeni di nefrite.

L'inferma è stata ricoverata nella Clinica a dì 23 febbraio 1901 (tre mesi dopo l'ultimo parto). Si doleva di cefalea, di disturbi visivi; ma non aveva edemi. L'orina era sempre scarsa. Sul cuore, che aveva il diametro obliquo di cm. 12,5 e il trasverso di cm. 8,5, si ascoltò un rumor di galoppo.

Nei quattro giorni precedenti quello in cui noi la prendemmo in esame, l'orina presentò i seguenti caratteri:

*24 febbraio.* — Densità 1007. Quantità totale p. d. cm³ 1400. Reazione acida. Color giallo chiaro. Presenza d'albumina in quantità notevole, assenza di zucchero.
*Urea* gr. 7,8 °/₀₀.

*25 febbraio.* — Caratteri generali, quasi gli stessi.
*Urea* gr. 7,8 °/₀₀.

*26 febbraio.* — Caratteri generali, quasi gli stessi.
*Urea* gr. 8,0 °/₀₀.

*27 febbraio.* — Caratteri generali, idem.
*Urea* gr. 9,4 °/₀₀.

È un caso di *nefrite subacuta post-partum*, in via di guarigione. Il giorno in cui fu esaminato il sangue (28 febbraio), l'orina presentava un lieve inalbamento; lo stato generale dell'inferma era soddisfacente, non si osservavano edemi nè altri sintomi gravi di nefrite. Fortunata-

mente, in quel giorno l'urea eliminata nell'orina continuò ad essare scarsa, come nei giorni precedenti, contrariamente ai giorni seguenti.

L'inferma prendeva come nutrimento un litro e mezzo di latte, due uova e un po' di legumi al giorno. Il primo di febbraio incominciò a prendere gr. 200 di carne in più. Questo giorno coincide con l'aumento dell'urea nell'orina. Il cinque di marzo, quando fu esaminato il sangue la seconda volta, le condizioni generali dell'inferma erano invariate e perdurava l'inalbamento dell'orina trattata coi comuni reattivi, sebbene fosse più lieve.

IV. — Dell'inferma del caso IV (ved. Tabella) non possiamo fornire alcuna notizia clinica, giacchè il sangue fu tolto mediante salasso da un nostro collega a un'inferma della sua privata clientela, e l'orina fu estratta in una sola volta, il giorno seguente, mediante cateterismo. Possiamo soltanto dire che il medico consulente fece diagnosi di *Uremia grave;* e infatti l'inferma morì tre giorni dopo.

V. — *Annita Lanzi*, di anni 25, nubile. Nulla di speciale nei suoi antenati. Fu di debole costituzione fin dall'infanzia. A sette anni soffrì la scarlattina, a nove il morbillo, a dieci una parotite bilaterale. A diciotto abortì al settimo mese di gravidanza, espellendo un feto macerato. Nella stessa epoca ebbe un'ulcera con adenite inguinale bilaterale, cui seguì un'eruzione cutanea. Cinque anni or sono soffrì di eresipela alla faccia. Ha abusato di alcool e, in generale, ha menato vita sregolata.

Da circa cinque anni si duole di edemi agli arti inferiori. Gli edemi son divenuti man mano quasi permanenti, anzi sono aumentati col diminuire della minzione. Nel settembre 1900 entrò nell'ospedale, essendosi gli edemi generalizzati, ed essendo divenuta sempre più scarsa l'eliminazione dell'orina.

Dal giorno del suo ingresso nella Clinica (marzo 1901) l'inferma è stata sempre grave. L'orina conteneva il 15-20-30 ‰ di albumina. Essendo stata ribelle ad ogni tentativo di cura razionale, è andata sempre peggiorando. Da ultimo apparve edema nella glottide. Fu sempre apiretica. Morì a dì 20 di marzo.

*Necroscopia.* — Edemi negli arti. Versamento sieroso nella cavità peritoneale e pleurica bilaterale. Cuore di volume normale e con valvole integre. Milza piuttosto grande; fegato piccolo. Reni ambedue molto aumentati di volume. La capsula si distacca facilmente; la sostanza corticale è pallida giallastra e aumentata di spessore. Le piramidi sono di colorito roseo; al raschiamento danno pochissimo succo misto a sangue. La diagnosi fatta in vita di *nefrite parenchimatosa cronica* fu confermata dal reperto necroscopico di *grosso rene bianco.*

Il giorno in cui fu preso il sangue per il nostro esame (il sangue conteneva 4,600,000 eritrociti e 21,500 linfociti per mm³), l'inferma tro-

vavasi a letto in uno stato di subdelirio, molestata continuamente da nausea; onde nutrivasi soltanto con qualche cucchiajata di latte raffreddato e di brodo. L'accesso uremico, accompagnato da aumento degli edemi durò quasi fino alla morte che avvenne due giorni dopo.

Molto probabilmente, in questo caso, la nefrite era da attribuirsi alla pregressa infezione eresipelatosa.

VI. — *Isolina Calamari*, di anni 37. Entra nella Clinica a di 28 di maggio 1901. Nulla degno di nota nel gentilizio. Ha sofferto di coliche addominali all'età di 29 anni, di natura indeterminabile. Ha avuto tre gravidanze, due parti prematuri ed uno condotto a termine. Tre mesi dopo l'ultimo parto, in seguito a un forte raffreddamento, ammalò di nefrite, le s'ingrandì la milza (?); ma guarì dopo un mese di cura. Nel 1898 entrò in questa Clinica, dopo aver sofferto di febbre per sei giorni in casa sua.

Le fu trovata la milza ingrandita, e fu curata con iniezioni di preparati ferruginosi e arsenicali.

Alla fine di dicembre del 1900 le fu osservata nell'orina la presenza di albumina e di sangue. Tale s'è mantenuta l'orina fino al giorno dell'ingresso nella Clinica. Essa è di colore rosso oscuro, ha reazione acida, densità 1012, contiene circa 0,5 $^0/_{00}$ d'albumina e sangue e cilindri granulosi.

Fatto un esame del sangue, furono trovati 2,748,000 eritrociti e 11,000 linfociti per mm$^3$.

Dopo undici giorni lasciò la Clinica con un tumore splenico ridotto di volume, ma con forte inalbamento albuminurico nell'orina.

Si tratta dunque d'una *nefrite lieve*, che però non guarì completamente durante la dimora dell'inferma nella Clinica.

L'inferma era alimentata con un litro e mezzo di latte, due uova e un quarto di pollo al giorno.

L'orina emessa fu sempre in quantità normale, o forse più che normale; l'urea totale oscillò fra gr. 8,5 e 10,5 p. d.; l'albumina fu sempre scarsa, cioè di circa mezzo grammo per litro.

VII. — *Palamede Tomagnini*, di anni 42. Entra nella Clinica a di 20 di febbraio del 1901. Nulla di speciale nel gentilizio. Ha sofferto due volte d'infezione malarica, dai 21 ai 22 anni. Nel 1887 soffrì di renelle. Quattro anni or sono ebbe il primo attacco di reumatismo articolare, ed un anno fa il secondo, ambedue leggeri. Nel novembre 1900 è stato colpito da tifo a decorso normale. Dal 1889 in poi si è dato a bere vino e liquori. Da un anno sono apparsi sintomi d'alcoolismo: tremore degli arti superiori, difficoltà nella pronunzia delle parole, poi accessi d'asma, ecc.

*Esame obiettivo.* — Respirazione frequente. Segni di enfisema polmonare. Aumento del diametro obliquo del cuore, e rumor di galoppo.

L'orina presenta inalbamento albuminurico, ma non contiene zucchero nè pigmenti biliari. Vi si trova sedimento di urati, qualche linfocito e qualche cilindro granuloso.

Dal marzo in poi presentò sempre tipica respirazione di Cheyne-Stokes, con pause respiratorie di 35–40 secondi. Apparvero anche edemi negli arti inferiori, specie in quello di destra, che perdurarono fino alla morte, avvenuta a dì 14 giugno.

*Necroscopia.* — Edemi negli arti inferiori e nella parte inferiore del tronco. Nelle pleure, aderenze fibrose, e a sinistra piccola quantità di trasudato. I polmoni sono aumentati di volume e di peso, presentano le pleure viscerali ispessite, contengono infarti recenti voluminosi specialmente nei lobi inferiori.

Il cuore è molto aumentato di volume e flaccido, e ha le sue cavità dilatate. Nel ventricolo sinistro, rammollimento puriforme di un grosso trombo aderente alle pareti. Ipertrofia del ventricolo e dell'atrio sinistro, e lieve del ventricolo destro, ecc. Fegato noce-moscata duro. Milza ingrandita e dura, coi caratteri della milza da stasi e arteriosclerotica.

Reni press'a poco normali, all'esterno, ma internamente presentano i caratteri dell'arteriosclerosi renale mediocremente grave.

La diagnosi fatta *in vita*, di *Alcoolismo cronico e nefrite interstiziale*, fu confermata dalla necroscopia.

Dei tre esami di sangue fatti in questo caso, il primo (6 marzo) corrisponde a un periodo di aggravamento dei sintomi ordinarii: il giorno precedente, l'orina era stata molto scarsa. Preso il sangue, fu somministrata all'infermo diuretina e digitale in forte dose, e la diuresi si stabilì con gran sollievo dell'ammalato. Il secondo esame (12 marzo) fu fatto un giorno in cui questi sembrava notevolmente migliorato, gli edemi negli arti inferiori erano da qualche giorno scomparsi, e la respirazione era tornata regolare. All'inizio della terza decade di marzo, l'infermo ebbe un altro periodo di peggioramento cospicuo; il giorno 24 l'orina fu emessa in quantità scarsissima. Somministrata la diuretina e la digitale, l'infermo si riebbe, e durante questo miglioramento fu fatto il terzo esame del sangue (26 marzo).

È degno di nota il fatto che in questo caso i segni d'intossicamento dell'organismo erano cospicui (basti rammentare la forma del respiro), tanto che era lecito aspettarsi di trovare nel sangue una quantità molto grande di azoto. Bisogna però

nel tempo stesso ricordare che l'infermo fu un alcoolista incorreggibile, onde è possibile che i centri nervosi reagissero in modo inusitato all'alterazione del sangue dovuta alla nefrite.

VIII. — *Orlando Covoni*, di anni 50. Fu ricoverato nella Clinica a dì 16 maggio 1901. Non abbiamo da riferire nulla di notevole circa i suoi antenati.

A 18 anni ebbe adenite inguinale, con esito in suppurazione. A 20 anni fu colpito da dolori articolari alla spalla destra, donde si diffusero alle altre articolazioni dell'arto medesimo; durarono due mesi.

Or sono tre anni soffrì per un'ulcera venerea. È stato un bevitore smodato, e, in generale, ha condotto vita disordinata.

Circa un anno fa, dopo un abuso venereo, fu colto improvvisamente da affanno e da dolori laceranti alla regione cardiaca. Da allora in poi non è stato mai bene, anzi gli è sopraggiunto un dolore ottuso e continuo all'ipocondrio destro. Spessissimo, per lievi cause, è molestato da dispnea e si risvegliano i dolori precordiali. Ora soffre quasi continuamente di cefalea frontale.

*Esame obiettivo* (16 maggio). L'ammalato respira affannosamente, ed è costretto a stare seduto sul letto. Gli si somministra frequentemente dell'ossigeno. Sul cuore ingrandito si ode un intenso soffio sistolico alla base. Dolori violenti al precordio, accessuali. Fegato grande sporgente dall'arco costale, con margine duro affilato. Lievi edemi negli arti inferiori.

L'orina presenta un lievissimo inalbamento, per la presenza d'albumina in tracce.

L'infermo morì il giorno 23 maggio, seguente a quello in cui si fece il salasso, che ci fornì il sangue da esaminare.

La necroscopia dimostrò che egli era colpito da cirrosi epatica, e che aveva un cuore molto ingrandito, ma senza vizii valvolari. L'arco dell'aorta presentava segni di grave arteriosclerosi. *Inizio di sclerosi ai reni.*

Aggiungiamo che il giorno del salasso, l'infermo era molto affannato, pallido-cianotico in volto, e si lamentava di accessi dolorosi al precordio.

IX. — *Nazzareno Offidani*, di anni 54. Nulla di notevole nel gentilizio. Fra i precedenti personali, notevoli due infezioni malariche piuttosto gravi e prolungatesi l'una per otto mesi all'età di 22 anni, e l'altra per quattordici mesi all'età di 27 anni.

La presente malattia s'iniziò, senza cause apparenti, sette mesi or sono, con sintomi vaghi, come debolezza generale, edemi agli arti inferiori e turgore dell'addome; finchè il medico constatò la presenza di

un grande tumore di milza. Fu curato con arsenico e joduri; ma non ne trasse giovamento.

Fu ricoverato nella Clinica a dì 10 d'aprile 1901.

*Esame obiettivo.* — Condizioni generali misere. Milza grandissima, giungente col margine inferiore all'arcata pubica, di consistenza quasi lignea, ma con superficie liscia. Il fegato è anche grande e giunge col margine inferiore alla linea ombelicale trasversa. Poco liquido nella cavità addominale.

L'esame del sangne dette, in media, circa 2,200,000 eritrociti e da 300,000 a 600,000 linfociti per $mm^3$. Il sangue conteneva numerosi eritrociti nucleati. Per ciò fu fatta diagnosi di *leucemia splenica.*

L'orina presentò sempre un lieve inalbamento albuminurico; ma l'infermo non ebbe mai edemi.

Cura arsenicale, con dosi elevate. Ciò non ostante, la debolezza generale dell'infermo andò aumentando parallelamente al crescere progressivo del numero dei linfociti nel sangue, fino al giorno in cui spontaneamente lasciò la Clinica.

L'esame del sangue e dell'orina fu fatto in un periodo, durante il quale l'ammalato riceveva come alimento 3 litri di latte e un quarto di pollo con due uova al giorno.

X. — Da ultimo, esaminammo il sangue del funicolo ombelicale, vale a dire il sangue della placenta, raccolto subito dopo il parto, di una donna che negli ultimi mesi della gravidanza aveva emesso orina contenente dell'albumina in quantità che non fu determinata.

I resultati analitici delle ricerche fatte nei su detti casi sono tutti raccolti insieme nella seguente tabella.

| Casi investigati | Data | Sangue | | Quantità dell'orina in cm³ | | N ella |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | N (del sangue o siero) in gr. % | Δ (del sangue o siero) | del giorno | della notte | del giorno in gr. % |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
| I. Nigi Luigi, di anni 43. | 18 Marzo 1901 | 0,97 | 0,570 | 3000 | 2000 | 4,6 |
| | 19 » » | — | — | 2000 | 2000 | 4,97 |
| | 21 » » | — | — | 4000 | | 4 |
| II. Barucci Annita, di anni 15. | 29 Marzo 1901 | — | — | 3500 | | 2 |
| | 30 » » | — | — | 3500 | | 4 |
| | 31 » » | 1,77-1,81 | 0,600 | 2100 | 1200 | 2,30 |
| | 2 Aprile » | — | — | 2500 | | 2 |
| | — | — | — | — | | 4 |
| | 15 » » | 1,80-1,90 | 0,640 | 3000 | | 2 |
| III. Valmori Giuseppa, di anni 30. | 28 Febbr. 1901 | 0,62 | 0,601 | 350 | 550 | 4,20 |
| | 1 Marzo » | — | — | 800 | 500 | — |
| | 2 » » | — | — | 850 | 650 | 4,69 |
| | 4 » » | — | — | 800 | 1200 | 3 |
| | 5 » » | 0,34 | 0,600 | 850 | 650 | 3,01 |
| IV. N. N. ✠ | 5 Maggio 1901 | 1,78-1,95 | 0,704 | — | — | — |
| | 6 » » | — | — | 1000 (?) | | 6, |
| V. Lanzi Annita, di anni 25. ✠ | 14 Marzo 1901 | 1,95 | 0,703 | 400 | | 4,5 |

| Orina | | | | |
|---|---|---|---|---|
| Urea in gr. | A dell' orina in C° del giorno | A dell' orina in C° della notte | Albumina in gr. °/oo | *Annotazioni* |
| 10 | 11 | 12 | 13 | 14 |
| 5,8 °/oo | 0,410 | 0,438 | 3 | Diagnosi: *Nefrite parenchimatosa cronica*, che data da più d'un anno. L'infermo prende tre litri di latte, due uova e ¼ di pollo, al giorno. |
| — | 0,505 | 0,430 | — | |
| — | 0,470 | | 2,5 | |
| (8,58) | 0,325 | | 2,25 | Diagnosi: *Nefrite parenchimatosa cronica*, che data da circa quattro anni. L'inferma prende, quasi sempre, tre litri di latte, due uova e gr. 200 di carne, al giorno. L'urea fu determinata soltanto il giorno 19 gennaio 1901. |
| — | 0,336 | | 2,20 | |
| — | 0,300 | 0,310 | 2,90 | |
| — | 0,330 | | 2,25 | |
| — | — | — | — | |
| — | 0,360 | | 3,10 | |
| 9,9 p. d. | 0,724 | 0,852 | Inalbamento. | Diagnosi: *Nefrite subacuta post partum*, in via di guarigione. L'inferma prende ordinariamente un litro e mezzo di latte, due uova e anche un poco di legumi, al giorno. Il 1° febbraio incominciò a prendere gr. 200 di carne in più |
| 14,8 » | 0,494 | 0,724 | — | |
| 15,8 » | 0,514 | 0,784 | .. | |
| 15,6 » | 0,472 | | | |
| 11,8 » | 0,426 | | Lievissimo inalbamento. | |
| | — | — | — | Caso della clientela privata. Fu fatta diagnosi di *Uremia grave*. Il sangue fu raccolto mediante salasso; l'orina, con la sonda, dalla vescica. |
| — | 0,800 | | — | |
| — | 0,669 | | 20 | Diagnosi: *Nefrite parenchimatosa cronica* (grosso rene bianco). Il sangue fu preso durante un accesso uremico. |

| Casi investigati | Data | Sangue | | Quantità dell'orina in cm³ | | N eliminato nell' | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | N (del sangue o siero) in gr. ‰ | Δ (del sangue o siero) | del giorno | della notte | del giorno in gr. ‰ | della notte in gr. ‰ |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| VI. Calamari Isolina, di anni 37. | 5 Giugno 1901 | 0,59 | 0,593 | 2000 | | 4,20 | |
| | 7 » » | — | — | 2000 | | 5,04 | |
| VII. Tomagnini Palamede, di anni 42. ✠ | 6 Marzo 1901 | 1,25 | 0,638 | 400 | 1300 | — | 8,96 |
| | 8 » » | — | — | 950 | 1700 | 7,35 | 4,27 |
| | 9 » » | — | — | 1850 | 1700 | 3,78 | 3,57 |
| | 11 » » | — | — | 1750 | 1250 | 3,64 | 4,20 |
| | 12 » » | 1,25 | 0,572 | 1200 | 2400 | 4,20 | 3,94 |
| | — | — | — | — | | — | — |
| | 24 » » | — | — | 700 | | 7,84 | |
| | 26 » » | 0,67 | 0,575 | 2100 | | 5,60 | |
| VIII. Covoni Orlando di anni 50. ✠ | 22 Maggio 1901 | 0,52–0,69 | 0,535 | 700 | | 11,72 | |
| IX. Offidani Nazzareno. | 2 Maggio 1901 | — | | 1535 | | 7,70 | |
| | 3 » » | — | — | 1350 | | 10,01 | |
| | 4 » » | 1,13 | 0,630 | 1170 | | 10,29 | |
| X. N. N. | 25 Maggio 1901 | 0,76 | 0,565 | — | — | — | — |

| Orina | | | | | Annotazioni |
|---|---|---|---|---|---|
| Orina pro die in gr. | Urea in gr. | Δ dell'orina in C° del giorno | Δ dell'orina in C° della notte | Albumina in gr. ‰ | |
| 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 |
| 8,40 | 8,5 ‰ | 0,615 | | 0,5 | Diagnosi: *Nefrite lieve* parenchimale cronica. L'inferma prende un litro e mezzo di latte, due uova e 1/4 di pollo al giorno. |
| 10,08 | 10,5 » | 0,630 | | Considerevole inalbamento. | |
| — | — | 1,727 | 1,187 | — | Diagnosi: *Alcoolismo cronico e nefrite interstiziale.* La diagnosi fu confermata dalla necroscopia. I primi due esami di sangue furono fatti durante due accessi uremici, il terzo dopo un accesso uremico, quando l'infermo aveva già preso da qualche giorno digitale e diuretina. |
| 13,53 | — | 1,002 | 0,682 | — | |
| 13,05 | — | 0,682 | 0,672 | — | |
| 11,62 | — | 0,554 | 0,522 | — | |
| 15,62 | — | 0,640 | 0,635 | — | |
| — | — | — | — | — | |
| 5,48 | — | — | — | — | |
| 11,20 | — | 0,560 | | — | |
| 8,20 | — | 1,435 | | Inalbamento. | Diagnosi: Arteriosclerosi generale. Cirrosi epatica. *Inizio di sclerosi dei reni.* |
| 11,21 | — | — | — | Lieve inalbamento. | Diagnosi: *Leucemia splenica* con albuminuria lieve. L'infermo prende circa 3 litri di latte, due uova e 1/4 di pollo, al giorno. |
| 13,63 | — | — | — | — | |
| 12,05 | — | 1,281 | | — | |
| — | — | — | — | — | Sangue del funicolo ombelicale, da una partoriente affetta d'albuminuria gravidica. |

A fin che il lettore possa facilmente comprendere le cifre scritte nella tabella, crediamo necessario dare i seguenti brevi schiarimenti. Nella prima colonna, incominciando a contare da sinistra, sono registrati i nomi dei pazienti; e, in ciascun caso, al nome segue l' indicazione dell' età. Nella seconda colonna si leggono le date dei giorni nei quali furono fatte le determinazioni.

Le cifre riferentisi al sangue sono state separate da quelle riferentisi all' orina. Nella terza e nella quarta colonna sono rispettivamente registrati il contenuto in N ureico-urico del sangue o del siero, espresso in grammi *per mille*, e l' abbassamento del punto di congelamento ($\Delta$) dei medesimi liquidi, espresso in gradi centigradi. Seguono, verso destra, le cifre riguardanti l' orina. E propriamente le colonne quinta e sesta indicano i volumi dell' orina eliminata dal paziente rispettivamente durante il giorno e durante la notte. Quando l'orina del giorno non fu separata da quella della notte, la cifra esprimente la quantità totale dell' orina è scritta lungo una linea intermedia alle due colonne sopra dette.

Per economia di spazio abbiamo soppresso una colonna, dove si sarebbero potute scrivere le quantità totali d' orina emessa nei giorni nei quali fu fatta la separazione dell'orina diurna dalla notturna; ma il lettore può fare agevolmente l' addizione delle due cifre e rappresentarsi la somma.

Seguono tre colonne (settima, ottava e nona), dove si trovano rispettivamente le cifre esprimenti il contenuto in N *per mille* dell' orina diurna e dell' orina notturna e dell' N totale, cioè *pro die*, eliminato dal paziente. Anche qui le cifre che si vedono scritte lungo una linea intermedia alle colonne settima e ottava si riferiscono a quei casi nei quali non fu separata l' orina del giorno da quella della notte.

La colonna decima contiene le cifre esprimenti il contenuto in urea *per mille* o *pro die*, ottenute nella Clinica stessa da un alunno interno, che ce le ha cortesemente fornite.

Riguardo a queste cifre, vedasi quanto abbiamo fatto notare a pag. 189.

Nelle colonne undecima e duodecima sono registrate le

cifre esprimenti gli abbassamenti del punto di congelamento dell'orina risp. diurna e notturna, o dell'orina totale (lungo la linea intermedia alle due colonne).

La colonna tredicesima offre al lettore indicazioni approssimative sul contenuto in albumina dell'orina dei singoli pazienti; e finalmente nella colonna quattordicesima abbiamo qua e là fatto delle annotazioni utili alla migliore intelligenza dei casi studiati.

## 4. — Resultati e considerazioni generali.

In primo luogo, prendiamo a considerare il rapporto che passa tra contenuto in azoto ureico-urico e abbassamento del punto di congelamento del sangue.

Posti come valori normali, per l'uomo, gr. 0,5 di azoto e 0,56° C, in cifre tonde, una cosa le nostre ricerche hanno mostrato in maniera irrefutabile, che cioè entrambi questi valori nei nefritici si trovano ad essere superiori a quelli accettabili come normali.

L'azoto alcune volte è più del doppio che nel sangue normale: così nel secondo, nel quarto, quinto, settimo e nono caso. Negli altri casi, fu sempre superiore, più o meno, al normale. Degni di nota furono i casi terzo e settimo, nei quali si osservò una diminuzione della quantità d'azoto ureico-urico; diminuzione che nel terzo caso andò sotto il valore normale, e molto probabilmente stava ad indicare un miglioramento dello stato dell'infermo, e nel settimo sicuramente è da attribuire all'azione benefica della digitale e della diuretina somministrate all'infermo nei giorni precedenti per porre fine al grave accesso uremico onde era stato colto. Soltanto in un altro caso, il secondo, fu fatta più d'una determinazione; ma in esso, non che diminuzione, si trovò aumento dell'azoto ureico-urico nel sangue, cui corrisponde un aumento notevole dell'albumina nell'orina.

Abbiamo trovato valori di $\Delta$ pari ai più alti finora ottenuti da altri osservatori: i massimi furono 0,703 e 0,704.

Il maggior numero di volte furono trovati valori intermedii a 0,600 e 0,640. Tuttavia cifre quasi normali non mancarono nè meno: 0,570 e 0,575; e una volta trovammo perfino una cifra inferiore alla normale: 0,535. Nel secondo caso, in cui aumentò la cifra dell'azoto, aumentò parallelamente anche il valore di Δ: ecco un caso, in cui si può dire che veramente sia avvenuta una ritenzione di urea nel sangue. Confrontando fra loro le quantità d'orina emessa nei due giorni, si vede che il giorno 15 aprile l'orina fu un po' meno abbondante del giorno 31 marzo, mentre la quantità totale dell'azoto eliminato nell'orina fu quasi la stessa. Un caso di cospicua diminuzione del valore di Δ è il settimo, dove da 0,638 scese a 0,572 e 0,575. Ma qui bisogna notare che, mentre il giorno del secondo esame del sangue l'azoto fu trovato in quantità sì grande come il giorno del primo, e solo il giorno del terzo esame fu trovato scemato, già nel secondo esame il valore di Δ era tornato quasi normale. Il fatto inverso ci offre a considerare il caso terzo, dove al secondo esame si trovò Δ quasi immodificato, mentre la quantità dell'azoto era scemata quasi della metà. Quale spiegazione possiamo noi dare di questi fatti contraddittorii? Nessun'altra, ammesso che le analisi non ci abbiano tratti in errore, se non che il passaggio dei sali minerali non seguita necessariamente quello dei corpi azotati non proteici, che l'eliminazione degli uni è, almeno in parte, indipendente da quella degli altri, e che per ciò il meccanismo di queste eliminazioni è diverso, tanto che in un caso di nefrite può soffrir l'uno, in un altro l'altro, secondo la natura e l'intensità della lesione renale.

Non ci maravigliano i casi, dove ambo i valori — dell'azoto e di Δ — sono alti o bassi: alti, come nei casi quarto, quinto e nono; bassi, come nei casi sesto e ottavo; bensì quegli altri, dove un parallelismo pur approssimativo non esisteva. Nel primo caso, a mo' d'esempio, a un contenuto di gr. 0,97 ‰ di azoto — relativamente alto — sta di contro un valore 0,570 relativamente basso di Δ. Così anche nei casi settimo e nono i valori di Δ sono bassi relativamente a quelli dell'azoto.

Ebbene, son questi appunto i casi che, osservati in maggior numero, qualora dessero sempre resultati simili ai nostri, potrebbero interpretarsi come esperimenti che soltanto l'alterazione morbosa può eseguire, e che farebbero credere all'esistenza d'un doppio e distinto luogo o procedimento d'eliminazione, dei corpi azotati ureici-urici e dei sali minerali, per i reni.

Fra le opposte ipotesi, noi siamo ancora del tutto al bujo circa quanto concerne il luogo e il meccanismo di secrezione dei varii corpi costituenti l'orina, compreso il solvente dei medesimi; e soltanto la mirabile diversità di struttura del tubolo renale, dal suo iniziarsi nella cavità glomerulare al tratto terminale, può farci sospettare che i varii tratti di esso, diversamente conformati e materiati, abbiano un ufizio diverso e distinto; di certo nulla sappiamo. Nè men la più grossolana separazione dell'apparecchio glomerulare dall'apparecchio tubolare finora è stato possibile eseguire sperimentalmente, in guisa da ottenerne resultati inconfutabili. La patologia ci potrebbe, forse, offrire di queste lesioni localizzate e circoscritte, come niuna mano di esperto operatore potrebbe meglio fare. Noi dobbiamo dunque indagare il più spesso che possiamo, fare simili ricerche in molti, nei più svariati casi di nefrite, e raccogliere fatti, per ora, che forse un giorno saranno utili a chiarire il mistero della secrezione renale.

* * *

Consideriamo quindi il rapporto fra contenuto in azoto ureico-urico e valore di $\Delta$ dell'orina. Qui altri fattori dovremo prendere in considerazione, e lo faremo il più brevemente che ci sarà possibile.

Non possiamo utilizzare come vorremmo i valori del contenuto in azoto dell'orina, perchè non conosciamo la quantità dell'azoto introdotto, nè quello espulso nelle fecce. Tuttavia confrontando l'azoto totale trovato nell'orina emessa in ventiquattro con la quantità totale dell'orina, e tenendo conto nel tempo medesimo della dieta giornaliera, potremo cavare dalle nostre ricerche qualche conclusione soddisfacente.

Si confronti, per es., il primo col secondo caso. Benchè fossero nutriti quasi allo stesso modo ed emettessero entrambi una quantità grande d'orina, la Barucci eliminava assai meno azoto del Nigi, in ciascun giorno.

D'accordo con questo fatto sta il contenuto maggiore in azoto e la più alta pressione osmotica del sangue della donna. Nel quarto e nel quinto caso trovammo cifre che parrebbero inverosimili, se non fossero state ottenute seguendo lo stesso metodo, tanto son basse. Del resto, in tutti i casi si osservò, su per giù, lo stesso fatto, cioè scarsa eliminazione di azoto nell'orina, che per giunta, come è noto, avveniva in modo irregolare.

Forse, se avessimo potuto tenere in esame ciascuno dei nostri infermi per uno spazio di tempo più lungo, avremmo anche noi osservato quello che è stato già da altri osservato, che periodi di scarsa eliminazione si alternano per lo più nei nefritici con altri di copiosa eliminazione d'azoto nell'orina: fatto che si presterebbe a considerazioni di qualche momento, se non fossimo quasi del tutto al bujo circa il modo onde l'urea passa dal sangue nell'orina. Per fortuna i corpi che non hanno libero passaggio nell'orina trovano nell'organismo abbondante liquido in cui ripartirsi: il sangue, la linfa e gli altri liquidi sierosi; così che raramente accade che la loro concentrazione si faccia in grado altissimo. Si fa però sempre in grado tale che e la determinazione dell'azoto urico-ureico e quella del punto di congelamento del sangue la rendono sensibile.

Quanto alla pressione osmotica dell'orina, essa fu quasi sempre abnormemente bassa nei nostri casi, anche quando l'orina non fu emessa *pro die* in quantità straordinariamente grande. Soltanto nell'ottavo caso e nella prima determinazione del settimo trovammo valori di $\Delta$ quasi normali; e ancora nel nono caso, che in verità non si può ritenere come un caso di nefrite vera. Il volume totale dell'orina non determina per sè solo il valore così basso di $\Delta$: cinque litri d'orina presentavano un $\Delta = 0{,}410$ e $0{,}438$ (primo caso), due litri e mezzo un $\Delta = 0{,}330$ (secondo caso). Nel settimo caso, un giorno a 1700 $cm^3$ d'orina riscontra un $\Delta = 1{,}727$ e $1{,}187$, un altro giorno a 2100 $cm^3$ d'orina riscontra un $\Delta = 0{,}500$.

È chiaro per ciò che, oltre alla quantità d'acqua emessa, v'influisce anche la quantità di corpi solubili, che varia nei diversi casi e di giorno in giorno in alcuni di essi.

Nei nostri casi, la concentrazione molecolare dell'orina del giorno, raffrontata con quella dell'orina della notte, non par che abbia seguìto una legge fissa. Nel secondo e nel terzo caso, l'orina della notte fu, tutte le volte che la separazione delle orine fu fatta, più concentrata di quella del giorno; ma nel settimo caso si verificò il fatto contrario; e nel primo si ebbero valori discordanti in due giorni successivi.

* * *

Con molta circospezione, ed avvertendo che altre indagini sono necessarie ancora, enunciamo la seguente conclusione. Nei nefritici, la pressione osmotica dell'orina tende a equipararsi con quella del sangue, anzi in certi casi diviene anche inferiore a questa. Ciò non può essere se non effetto di ritenzione di cataboliti nell'organismo, e la poliuria spontanea o provocata è un mezzo efficacissimo per depurare l'organismo dai materiali che vi ristagnano. Sì fatta conclusione, però, ha valore solo quando l'introduzione e l'eliminazione dell'acqua non hanno subìto alterazioni troppo profonde e si fanno per le vie normali. O, in altre parole, solo in queste condizioni, il trovare la pressione osmotica totale dell'orina più vicina, che non usi, a quella del sangue, può essere indizio di alterazione della funzione renale.

* * *

Ci resta a fare un raffronto dell'orina col sangue, o meglio dei nostri valori di N e di $\Delta$ osservati nell'orina con quelli del sangue. Già ne abbiamo detto qualcosa più sopra; ma non sarà inutile riassumere qui in poche parole il tutto insieme.

Essendo i reni i principali organi per i quali l'organismo si libera delle scorie del suo metabolismo, e l'orina, di conseguenza, la somma di tutto ciò che di nocivo circola nel

sangue e non esce per altre vie, è agevole intendere che un rapporto preciso debba esistere fra orina e sangue, per quel che concerne la loro composizione chimica e alcuna proprietà fisica, e che questo rapporto debba alterarsi allor quando i reni sono malati.

Poniamo che il rapporto normale in una persona sana, tenuta a dieta costante di alimenti solidi e d'acqua, sia espresso dai seguenti numeri:

| Sangue | Orina |
|---|---|
| N = gr. 0,5 ‰ | N = gr. 10 ‰ |
| Δ = 0,56° C | Δ = 1,5° C |

Questi numeri sono piuttosto verosimili che veri, e sono schematici, perchè non resultano da determinazioni fatte in uno stesso individuo, bensì in individui diversi. Crediamo però che figurino la realtà molto da vicino, se non esattamente. Or bene, le ricerche sui nefritici dimostrano:

1° Che le variazioni dei valori concernenti il sangue rimangono sempre circoscritte fra limiti assai stretti, mentre quelle concernenti l'orina sono più ampie. Il che non può meravigliare, quando si pensi che il volume dei liquidi dell'organismo è almeno cinque volte maggiore di quello dell'orina, senza contare i succhi intracellulari dei varii tessuti, nei quali almeno una parte dei corpi determinanti i valori, dei quali si discorre, sono solubili o possono essere trattenuti.

2° Che le variazioni dei valori concernenti il sangue sono sempre aumenti di essi, mentre le variazioni dei valori dell'orina sono sempre diminuzioni dei valori normali (eccetto forse i casi, da noi non ancora osservati, nei quali si verificano scariche improvvise di cataboliti nell'orina, che però dovrebbe essere assai concentrata).

Questo fatto, che il rene malato è d'ordinario (si può dire che, anzi, in ciò sta la essenza della malattia) meno permeabile (usiamo questa parola nel suo significato generico, non in quello specifico che le si annette dai fisici) per quei corpi disciolti del sangue, per i quali in condizioni normali è permeabilissimo; questo fatto, diciamo, potrebbe suggerire una quan-

tità di considerazioni teoriche sul procedimento della secrezione renale e sulle proprietà di quello che i clinici usavano chiamare, con parola impropria, « filtro renale ». Ma, poi che tali considerazioni in verità non si trasmuterebbero in conoscenze positive, bensì in temi di ricerca clinica e sperimentale, preferiamo far punto, e aspettare, a formulare quelle considerazioni, che altre ricerche siano state fatte.

* * *

Di grande interesse sarebbe il raffronto dei resultati delle nostre ricerche con la natura della lesione renale, a fine di dedurne qualche idea che servisse di guida nella diagnosi di localizzazione della lesione medesima.

Ma non è chi non veda che siamo assai lontani dal poter fare un simile raffronto. Questo sarà possibile solo quando in molti casi di nefrite sarà stato determinato, durante la vita, almeno l' N ureico-urico, il punto di congelamento e il contenuto in sali minerali, parallelamente del sangue e dell' orina, e più volte successivamente nello stesso infermo, e poi sarà stato fatto non solo l' esame necroscopico grossolano, ma anche un accurato studio microscopico delle varie parti dei reni, in guisa da stabilire precisamente la natura e l' estensione della lesione renale.

Finchè questo studio serio e paziente non sarà fatto, tutti i tentativi, di diagnosticare la natura e il luogo della lesione renale coi nuovi mezzi d' esame, sono prematuri e vani [1].

[1] Quando questo scritto era già pronto per essere stampato, ci occorse di leggere il lavoro di F. Micheli e A. Ceconi (*La concentrazione molecolare del sangue e delle orine nelle malattie cardiache e renali*; Riv. Clin. med., II, nº 40-44, 1901). Abbiamo veduto, con piacere, che, per quanto riguarda le variazioni di Δ del sangue e dell' orina dei nefritici, i resultati loro e i nostri s' accordano perfettamente, nei punti essenziali.

Laboratorio di Anatomia Patologica nella Facoltà medica di Lucania [illegible]

# RICERCHE SULL'ELETTROLISI DELLE SOSTANZE PROTEICHE.

## STUDI

DEI DOTTORI

**V. GRANDIS** E **P. T. VIGNAU.**

(con 6 figure)

Già da molti anni i fisici ed i chimici si sono preoccupati di studiare le modificazioni che il passaggio di una corrente elettrica determina nelle proprietà delle sostanze proteiche. Quando vennero fatte quelle ricerche era anche assai più limitata di quanto non sia ora la conoscenza delle proprietà caratteristiche, colle quali si distinguono fra loro le numerose forme comprese in questa categoria di sostanze. Parimenti erano per la maggior parte sconosciute le leggi della elettrochimica.

Abbiamo ripreso lo studio della questione, e riferiamo nelle seguenti pagine i primi risultati cui siamo arrivati, ed il metodo seguito.

Le ultime ricerche che noi abbiamo potuto riscontrare su questo argomento sono quelle di *Chandelon* (1) e *Stewart* (2): il primo di questi autori dice che la corrente elettrica ha il potere di trasformare l'albumina in peptone e propeptone, ma non fa alcun cenno dell'azione speciale esercitata dai due poli nel produrre questa trasformazione. *Stewart* trovò che scomponendo le proteine colla elettrolisi al polo positivo si ottiene la formazione di acidalbumina, ed al polo negativo alcalialbumina.

(1) CHANDELON, *Beitrag zum Studium vom Peptonization.* (Berich. d. Deutsch. Chem. Gesell., Bd. 17, pag. 2148).

(2) STEWART (J. N.), *Electrolysis of animal tissues.* (Lancet, dicembre, 1899).

Per ora noi abbiamo esteso le nostre ricerche solamente all'albumina dell'uovo, all'albumina del siero, alla globulina del siero, alla caseina ed alla vitellina. Abbiamo cercato di ottenere le sostanze da sottoporsi all'analisi dello stato di maggior purezza che attualmente sia possibile raggiungere, cercando sopratutto di liberale dai sali inorganici coi quali queste sostanze sono sempre accompagnate. Dopo averle separate dal liquido organico, chiara e torlo d'uovo, sangue, latte dal quale si volevano ricavare, coi metodi, indicati come più adatti allo scopo, si sottoponevano alla dialisi per un tempo lunghissimo, rinnovando l'acqua fintanto che essa desse ancora le reazioni del sale, di cui ci eravamo serviti per la precipitazione. Una volta raggiunto questo limite, abbiamo seccato il prodotto evaporandolo alla temperatura di 30 gradi sotto una campana, nella quale si rarefaceva l'aria fintanto che la pressione interna fosse ridotta a 30 centimetri di mercurio. Tutte le operazioni vennero fatte nei mesi più freddi dell'anno, adoprando le maggiori cautele per impedire l'arrivo di germi della putrefazione, e abbiamo raggiunto il grado di purezza possibile, senza che il preparato assumesse l'odore delle sostanze organiche in decomposizione bacterica.

Quando si trattava di far agire la corrente elettrica, si pesava una determinata quantità della sostanza secca, e la si scioglieva in acqua, e nel caso in cui la sostanza era insolubile, la si triturava in polvere finissima, e la si sospendeva in una determinata quantità di acqua distillata.

Fu nostra preoccupazione principale il poter ottenere separati i prodotti formantisi al polo positivo, da quelli del polo negativo. In prove preliminari avevamo osservato che per questo scopo non si potevano adoprare gli ordinari vasi porosi, comunente usati per le pile elettriche, perchè essi impartiscono una reazione acida all'acqua distillata che in essi soggiorna. Dopo alcuni tentativi abbiamo visto che serve assai bene la carta pergamena, colla quale si preparano i dializzatori, ad abbiamo con questo costrutto dei recipienti cilindrici legando un foglio di carta attorno ad una rotella di quella sostanza isolante, che si conosce in elettrotecnica col nome di fibra.

Nella rotella era praticata circolarmente una scannellatura destinata ad impedire che lo spago scivolasse, lateralmente il tubo veniva chiuso a tenuta di liquido appiccicando fra loro i lembi di carta sovrapposti per mezzo di una soluzione alcoolica di gomma lacca.

Il vaso di carta risulante veniva inumidito in acqua distillata, e messo dentro un cilindro di vetro, di diametro alquanto superiore, la soluzione da sottoporsi all'elettrolisi si versava parte nel cilindro di vetro e parte nel cilindro di carta, in modo che il livello in questo raggiungesse la stessa altezza raggiunta dal liquido nel cilindro di vetro esterno. In ciascuno di questi cilindri si immergerva poscia un elettrode di platino platinato, che veniva posto in comunicazione colla sorgente elettrica, ed un termometro. Il tutto si copriva poi con una campana di vetro stretta ed alta.

Come sorgente elettrica ci siamo serviti della corrente d'illuminazione della città che viene distribuita a 220 V. Su questo circuito intercalavamo come resistenza una lampada di 16 candele, la quale permetteva il passaggio di 0,25 Ampères. Nello stesso circuito era intercalata una cassetta di resistenza ed un milliamperometro col quale si poteva misurare un mezzo milliampere. Ad intervalli si notava la temperatura segnata dai termometri immersi nei due recipienti interno ed esterno, e si notava l'intensità della corrente che passava attraverso al liquido, segnata dall'amperometro. In quei casi in cui si notava un'elevazione della temperatura, in modo che essa mostrasse tendenza ad avvicinarsi al punto di coagulazione della sostanza sottoposta all'elettrolisi per mezzo della cassetta di resistenza, s'intercalava una resistenza suppletoria a quella della lampada, in modo che venisse diminuita l'intensità della corrente passante attraverso alla colonna del liquido sottoposto all'elettrolisi.

## Proprietà fisiche.

Quantunque le determinazioni fin ora eseguite non abbiano la pretesa di farsi considerare come vere misure della

conduttività elettrica della soluzione, ci hanno fatto vedere una interessante successione di fenomeni, sui quali crediamo conveniente fermare alquanto la nostra attenzione.

I risultati che qui sotto riferiremo non potranno darci un' idea della resistenza che questi corpi offrono al passaggio della corrente, perchè la disposizione adoperata non permetteva di ottenere dei valori assoluti, essendo la posizione degli elettrodi arbitraria e non determinata. Siccome però essi permanevano immobili nella stessa posizione durante tutto il tempo, per il quale si faceva passare la corrente, e rimaneva perciò invariato lo spessore dello strato il liquido interposto fra i due elettrodi, le differenze che abbiamo riscontrato, nei diversi periodi si dovranno ascrivere a variazioni nel potere conduttore del liquido.

Di fronte alla insufficienza attuale della chimica nel determinare la natura delle decomposizioni cui vanno soggetti i corpi proteici, ed i vari stati per cui passano nelle trasformazioni stesse, ci pare che la conoscenza della variazione del loro potere elettroconduttore abbia un certo valore nel guidarci alla conoscenza delle modificazioni che avvengono nella disposizione delle molecole che prendono origine.

Ora che siamo posti sull'avviso, sarà nostra cura determinare esattamente il valore assoluto della conduttività elettrica.

La superficie degli elettrodi adoperati era di mm. 62×70. Per il riscaldamento sofferto dal liquido avveniva un poco di evaporazione d'acqua, la quale diminuiva alquanto la superficie di elettrode col quale il liquido veniva a contatto.

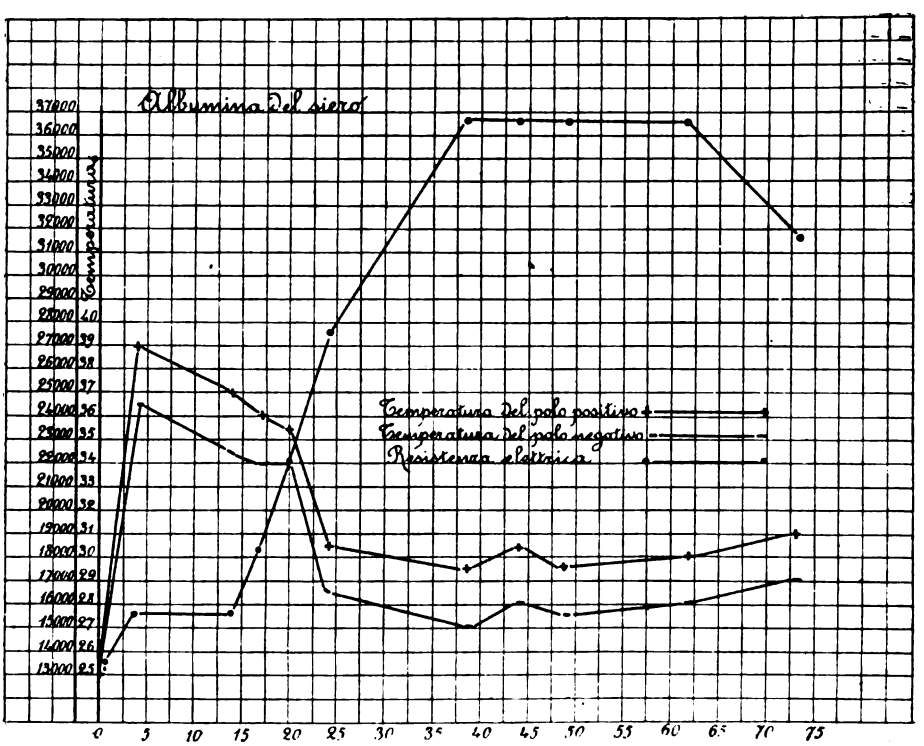
Appena interrotto il passaggio della corrente, quando si poneva termine all'azione elettrolitica, si versava in un vaso di vetro il liquido contenuto nel recipiente interno fatto con carta pergamena. Si evitava così che attraverso alla pergamena potessero avvenire dei processi di diffusione tra i prodotti formatisi al polo negativo e quelli formatisi al polo positivo, intralciando il risultato delle reazioni che intendevamo di fare, per conoscere le proprietà dei prodotti ottenuti.

Nelle seguenti tabelle sono raccolti i dati fisici raccolti per le differenti sostanze sottoposte ad esame.

## Albumina del siero.

Il titolo di questa soluzione andò perduto.

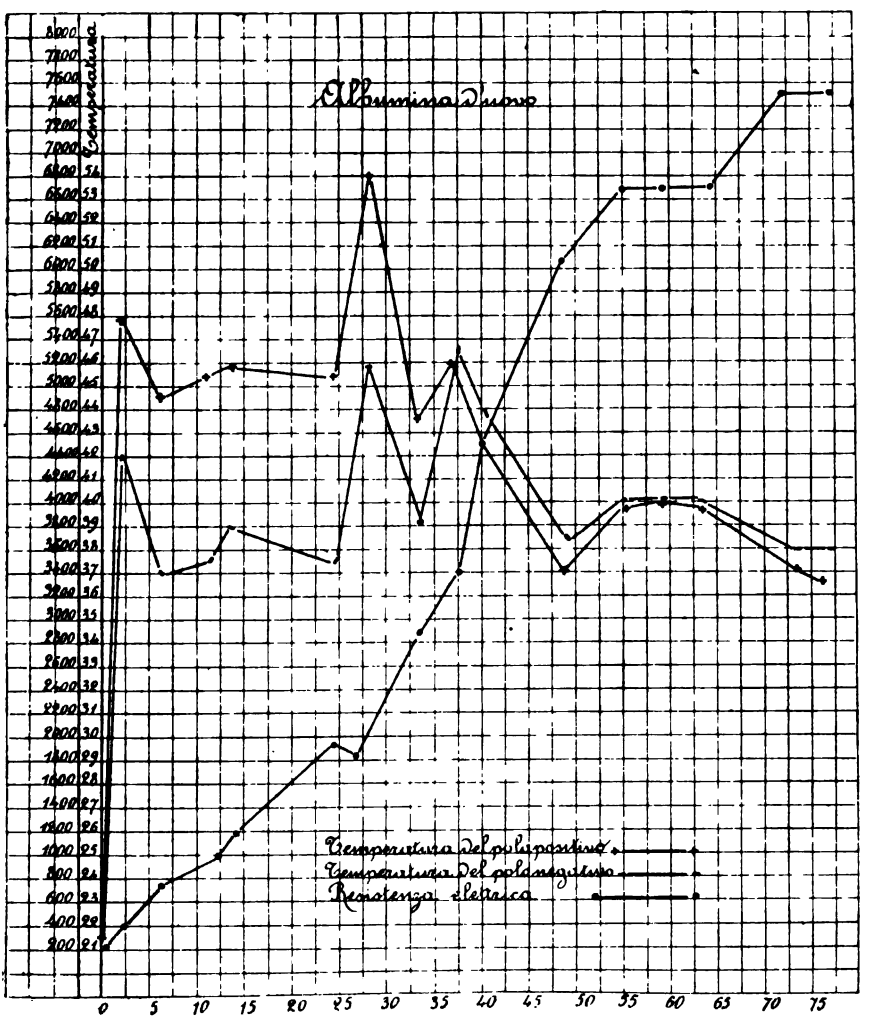
| Durata della elettrolisi in ore | Temperatura | | Resistenza elettrica in Ohms |
|---|---|---|---|
| | Polo positivo | Polo negativo | |
| 0 | 25 | 25 | 13750 |
| 4 | 39 | 36.5 | 15714 |
| 14 | 37 | 34.5 | 15714 |
| 17 | 36 | 34 | 18333 |
| 20 | 35.5 | 34 | 22000 |
| 24 | 30.5 | 28.5 | 27500 |
| 38 | 29.5 | 27 | 36666 |
| 44 | 30.5 | 28 | 36666 |
| 48 | 29.5 | 27.5 | 36666 |
| 62 | 30 | 28 | 36666 |
| 73 | 31 | 29 | 31428 |



## Albumina d' uovo.

### Soluzione 3. 5 %

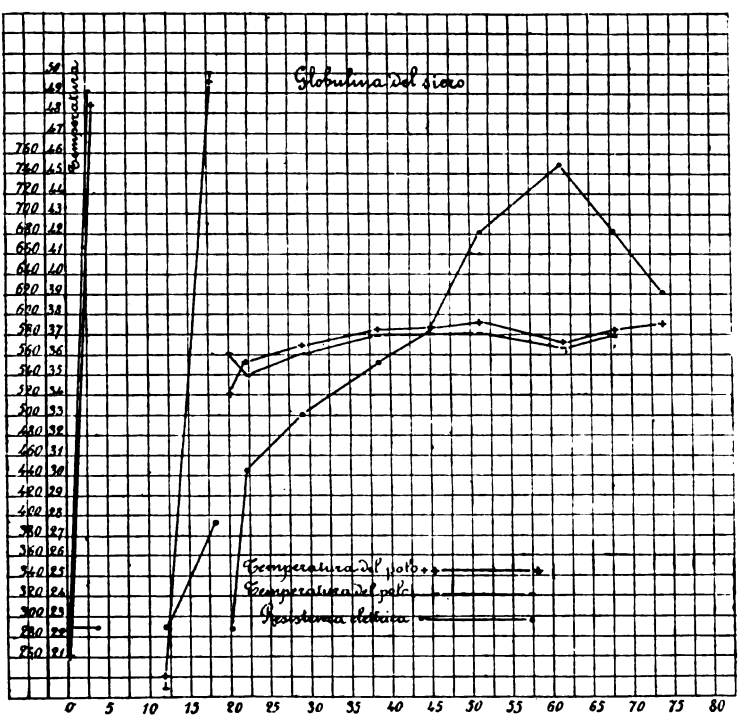
| Durata della elettrolisi in ore | Temperatura | | Resistenza elettrica in Ohms |
|---|---|---|---|
| | Polo positivo | Polo negativo | |
| 0 | 21.5 | 21.5 | 200 |
| 2 | 47.8 | 42 | 391 |
| 6 | 44.5 | 37 | 744 |
| 12 | 45.3 | 37.5 | 971 |
| 14 | 45 7 | 39 | 1182 |
| 24 | 44.3 | 37 | 1937 |
| 26 | 54 | 46 | 1820 |
| 33 | 43.5 | 39 | 2739.6 |
| 37 | 46 | 46.5 | 3400 |
| 40 | 42 | 44 | 4500 |
| 48 | 37.5 | 38 5 | 6096 |
| 55 | 39.8 | 40 | 6687 |
| 59 | 40.1 | 40 | 6687 |
| 63 | 39.8 | 40 | 6687 |
| 73 | 37 | 38 | 7461 |
| 77 | 36 7 | 38 | 7461 |
| 80 | 37 4 | 39 | 7461 |
| 85 | 37.5 | 38 5 | 7461 |



## Globulina del siero.

Sospensione 2 gr. per cento di acqua stillata

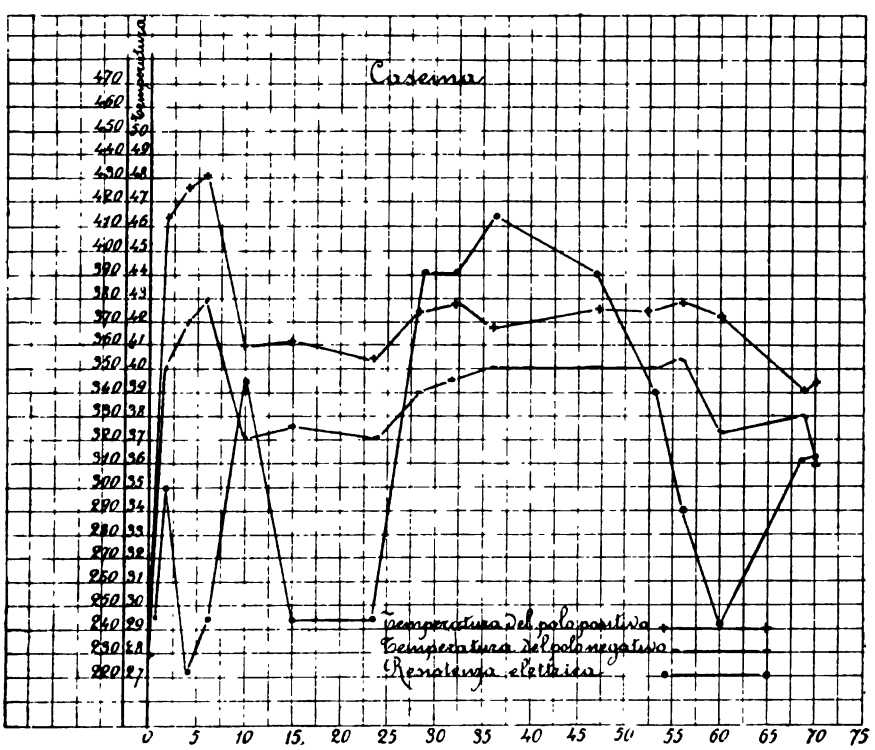
| Durata delle elettrolisi in ore | Temperatura | | Resistenza elettrica in Ohms |
|---|---|---|---|
| | Polo positivo | Polo negativo | |
| 0 | 21 | 21 | 291 |
| 4 | 48.5 | 49 | 291 |
| Si sospende la corrente fino alla 12ª ora | | | |
| 12 | 20 | 19.5 | 291 |
| 16 | 49.5 | 50 | 391 |
| Si sospende la corrente fino alla 20ª ora | | | |
| 20 | 34 | 36 | 291 |
| 22 | 35.5 | 35 | 444 |
| 29 | 36.5 | 36 | 500 |
| 38 | 37 | 37 | 558 |
| 45 | 37.25 | 37 | 588 |
| 51 | 37.5 | 37 | 682 |
| 62 | 36.5 | 36.5 | 750 |
| 68 | 37.25 | 37.25 | 682 |
| 74 | 37 5 | 37 | 619 |
| 84 | 35.75 | 36 | 682 |
| 94 | 36.5 | 37 | 650 |
| 119 | 35 5 | 37 | 682 |



## Caseina.

Sospensione 2 %

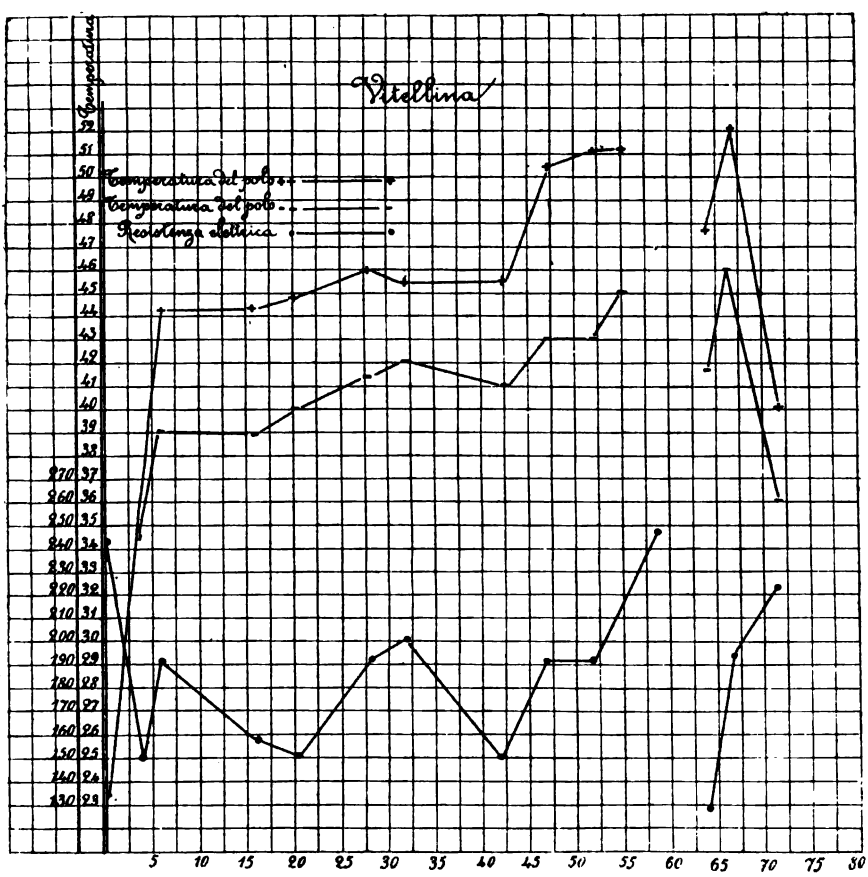
| Durata della elettrolisi in ore | Temperatura | | Resistenza elettrica in Ohms |
|---|---|---|---|
| | Polo positivo | Polo negativo | |
| 0 | 28 | 27 | 244 |
| 2 | 46 5 | 40 | 300 |
| 4 | 47.8 | 42 | 222 |
| 6 | 48.1 | 42.8 | 244 |
| 10 | 40.9 | 37 | 344 |
| 15 | 41 2 | 37.5 | 244 |
| 23 | 40 5 | 37 | 244 |
| 28 | 42 4 | 39 | 391 |
| 32 | 42.7 | 39.5 | 391 |
| 36 | 41.7 | 40 | 417 |
| 47 | 42 4 | 40 | 391 |
| 53 | 42 5 | 40 | 340 |
| 56 | 42 9 | 39.5 | 291 |
| 60 | 42.2 | 37.5 | 244 |
| 69 | 39.1 | 38 | 315 |
| 70 | 39.4 | 36 | 315 |



## Vitellina

Sospensione al 2 %

| Durata della elettrolisi in ore | Temperatura | | Resistenza elettrica in Ohms |
|---|---|---|---|
| | Polo positivo | Polo negativo | |
| 0 | 23 5 | 24 | 244 |
| 4 | 37 | 35 | 150 |
| 6 | 44.25 | 40 | 156 |
| 16 | 44.5 | 39 | 194 |
| 20 | 44 75 | 40 | 150 |
| 28 | 46 | 41.5 | 194 |
| 32 | 45 5 | 42 | 200 |
| 42 | 44.5 | 41 | 150 |
| 47 | 50.5 | 43 | 194 |
| 52 | 51 | 43 | 194 |
| 55 | 51 | 45 | 244 9 |
| S'interrompe il passaggio della corrente per 8 ore | | | |
| 64 | 47.5 | 41.5 | 130 |
| 67 | 52 | 46 | 194 |
| 72 | 40 | 36 | 222 |
| 84 | 39 | 36 | 268 |



Dall'esame di tutte queste tabelle risulta che varia il modo di comportarsi della temperatura ai due poli. Si nota che la temperatura del liquido sottoposto all'azione del polo positivo è superiore a quella assunta dal polo negativo. Uno solo dei corpi fa eccezione a questa regola, ed è la globulina del siero, nella quale, durante le prime ore d'azione della corrente, si nota il fenomeno inverso. Dopo alcune ore però l'inversione cessa, e la temperatura riprende il suo decorso normale. Nell'elettrolisi di questo corpo si verifica inoltre il fatto che la differenza di temperatura presentata dai due poli oscilla entro limiti molto ristretti di un mezzo grado circa, mentre in generale la differenza che si nota per le altre sostanze raggiunge talora, come nell'albumina d'uovo, il valore di otto gradi.

Nell'albumina d'uovo avviene il fenomeno opposto a quello che abbiamo or ora descritto nella globulina, la temperatura del polo positivo nelle prime ore è molto più alta della temperatura del polo negativo, ma dopo 35 ore di azione della corrente elettrica, si abbassa sotto il livello segnato dalla temperatura del polo negativo.

Un'osservazione attenta ci permette inoltre di rilevare che il decorso della temperatura dei due poli non segue sempre parallelo, ed in determinati periodi può riscontrarsi che mentre ad un polo vi ha tendenza a diminuire, nell'altro abbia invece tendenza ad aumentare, o che la diminuzione dell'uno sia accompagnata da uno stato invariato, nell'altro.

L'essere i recipienti chiusi sotto una campana e posti in un angolo di una camera chiusa, nella parte interna dell'edifizio, dove non avvenivano movimenti d'aria perchè non vi era passaggio di persone, ci permette di ascrivere queste variazioni a fenomeni interni che avessero luogo nel liquido stesso per azione della corrente.

Trattandosi di sostanze colloidi purificate, colla dialisi finchè le reazioni chimiche più sensibili non ci permettevano più di svelare la presenza di sostanze inorganiche con esse mescolate, siamo autorizzati a ritenere che questo speciale comportamento non si debba riferire ad una irregolarità nella ve-

locità dei ioni positivi o negativi che potessero per caso esservi contenuti. I soli ioni che potevano trovarsi liberi erano quelli dell'acqua distillata in cui le sostanze erano sciolte o sospese, e quelli che potessero esser liberati dal corpo della molecola proteide colla quale erano combinati.

Questo modo di vedere ci viene confermato dal fatto che le differenze nella temperatura non si limitano sempre solamente ai primi periodi dell'elettrolisi, cioè quando poteva trovarsi nel liquido il maggior numero di differenti ioni irregolarmente distribuiti nelle due porzioni di esso sottoposte all'azione dei due poli, ma si conserva ancora, per alcune sostanze, come specialmente nella siero-albumina, globulina, caseina e vitellina, dopo che per molte ore d'azione dell'elettricità, tutti i ioni positivi e negativi, avevano avuto il tempo di trasportarsi ai corrispondenti poli.

Se le osservazioni più minute che stiamo organizzando ci confermeranno questo fenomeno, sarà legittimata la nostra deduzione, che nella scomposizione elettrolitica delle sostanze proteiche si formano nei differenti periodi delle sostanze che hanno una resistività specifica differente, e che nei due poli hanno luogo delle reazioni che assorbono una differente quantità di energia, cosicchè la complicazione della struttura molecolare delle sostanze proteiche dà luogo a fenomeni secondari, capaci di mascherare gli effetti della legge di *Faraday*.

Il fenomeno è tanto più notevole in quanto noi abbiamo qui un altro fatto che contradice quanto noi sappiamo comunemente avverarsi nei differenti corpi riguardo al loro potere conduttore per l'elettricità.

I corpi solidi sono generalmente più conduttori a temperatura bassa, mentre i liquidi sono più conduttori quando la loro temperatura si eleva. Le soluzioni dei corpi proteidi da noi studiate si comportarono precisamente all'opposto, si mostrarono cioè migliori conduttori quando la loro temperatura era più bassa, aumentando questa, diminuì il loro potere conduttore.

Ciò porta alla conclusione che la resistività dei corpi, prodottisi sotto l'azione del passaggio della corrente, fosse anche

più grande di ciò che non appaia dai risultati delle osservazioni fatte, perchè malgrado fosse aumentato il potere conduttore dell'acqua, in cui quei corpi erano disciolti, oppure sospesi, il potere conduttore della miscela risultante era in complesso diminuito.

Secondo *Walther Löb* (1), *Lassaigne* ha dimostrato che l'albumina pura in soluzione acquosa non è conduttrice. Noi sappiamo però che non si può parlare di sostanze coibenti in senso assoluto, ma che tutte le sostanze sono più o meno conduttrici. Nei corpi esaminati il potere conduttore varia nei differenti periodi d'azione della corrente elettrica. Vedremo nell'esame delle proprietà chimiche che queste variazioni delle condizioni fisiche sono accompagnate da corrispondenti variazioni nelle proprietà chimiche.

*Galeotti* (2) studiando la conducibilità elettrica dei tessuti animali trovò che essa diminuisce man mano che il tessuto va morendo e riferisce questa diminuzione al fatto che i ioni liberi sieno diminuiti, poichè è dimostrato che la variazione di stato delle sostanze colloidi non ha influenza sulla loro conducibilità. È degno di nota che lo stesso fatto da lui riscontrato sui tessuti viventi si riproduce in queste nostre ricerche, dove trattavamo corpi colloidi morti e privati di sali per una lunga dialisi. Nelle nostre condizioni perciò dobbiamo ammettere che la variazione di conducibilità sia legata con una trasformazione molecolare determinata dall'energia elettrica ed accompagnata da fissazione di H-ioni e di OH-ioni sotto forma di aggruppamenti caratteristici. Dalle reazioni chimiche vedremo che questi aggruppamenti sono probabilmente simili a quelli che si ottengono dalla scomposizione delle sostanze proteiche per azione dei fermenti digestivi.

Sebbene il modo col quale sono stati raccolti i dati fisici caratteristici del processo elettrolitico a cui sono stati sottoposti i corpi proteici esaminati, sia da considerarsi come in-

(1) Löb W., *Unsere Kenntnisse in der Elektrolyse und Elektrosynthese organischer Verbindungen*. Halle, 1899, pag. 80.

(2) Galeotti, *Ricerche sulla conducibilità elettrica dei tessuti animali*. (Lo Sperimentale, anno LV, pag. 759).

completo, le curve da essi ottenute ci permettono già di riscontrarvi alcuni fatti interessanti, capaci di costituire buoni caratteri distintivi dei differenti corpi.

Nelle albumine la resistenza elettrica aumenta progressivamente fino ad un massimo che è molto lontano dal valore della resistenza elettrica della stessa sostanza al principio dell'operazione. In questi corpi si mantiene abbastanza costante il rapporto fisico tra la resistenza e la temperatura del liquido, ciò si vede specialmente bene nella curva dell'albumina del siero, dove la determinazione fu fatta con un apparecchio apposito alquanto più adatto allo scopo, che non il vaso sopra descritto destinato a preparare i prodotti per l'esame chimico. Come era naturale aspettarsi da quanto abbiamo fatto notare sopra, il decorso della temperatura è inverso a quello della resistenza elettrica. In ogni caso però si conserva il fatto che nei primi periodi almeno la temperatura del polo positivo sia superiore a quella del polo negativo.

La globulina presentò nei primi momenti dell'elettrolisi una conduttività abbastanza grande, e corrispondentemente una tendenza grandissima a riscaldarsi, tanto che, per evitare che l'azione della corrente fosse complicata con l'azione della temperatura elevata, dovemmo ricorrere parecchie volte al rimedio estremo di sospendere il passaggio della corrente. È caratteristico di questa sostanza l'offrire delle differenze assai piccole tra le temperature dei due poli, e di presentare nei primi periodi dell'elettrolisi il fenomeno inverso delle altre sostanze, cioè una temperatura più elevata al polo negativo. Dopo dieci ore d'azione della corrente, succede però un inversione del fenomeno, e la temperatura del polo positivo diventa di poco superiore a quella del polo negativo.

Con questa sostanza è assai poco evidente la relazione tra la resistenza interna del liquido, e la temperatura del liquido stesso.

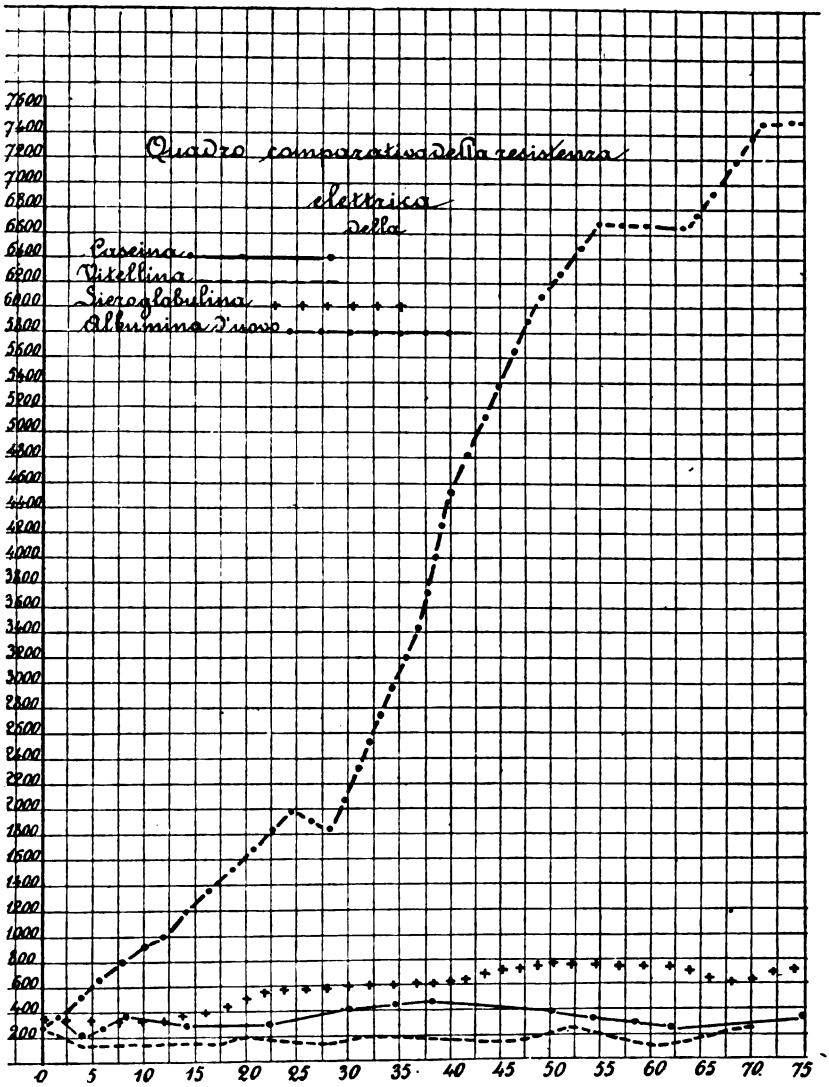
Le due nucleo-albumine studiate hanno mostrato un decorso completamente differente fra di loro, tanto per ciò che riguarda la temperatura, quanto per la resistenza interna del liquido, essi hanno di comune solamente il fatto generale che

la temperatura del polo positivo si conservi più alta di quella del polo negativo. Dopo le prime ore nella caseina non si scorge più rapporto tra la temperatura e la resistenza interna, anzi verso la cinquantesima ora i due fenomeni assumono addirittura un decorso opposto al normale, e mentre diminuisce la resistenza, diminuisce pure la temperatura.

Nella vitellina invece si osserva una progressiva diminuzione di resistenza, la quale si mantiene bassa fin verso la cinquantesima ora di elettrolisi, salvo leggere oscillazioni. In questo primo periodo va aumentando la differenza tra le temperature dei poli, ed aumenta pure lentamente l'altezza della temperatura. In un periodo successivo la resistenza interna diviene rapidamente superiore alla resistenza iniziale, e contemporaneamente aumenta tanto la temperatura, che, per sottrarsi ai suoi effetti, siamo costretti a sospendere il passaggio della corrente.

In questo fatto anomalo che si verifica in un certo periodo della elettrolisi, concordano i due nucleoproteidi. Riserberemo le ipotesi che possono esser suggerite dai rapporti che corrono tra il comportamento fisico e le modificazioni chimiche sofferte, dopo averne fatto uno studio più minuzioso.

Per maggior evidenza abbiamo raccolto in una sola curva, riportando tutte le ordinate delle curve anteriori ad un valore eguale, il decorso della resistenza interna dei differenti corpi proteici cui abbiamo rivolta la nostra attenzione.


Quadro comparativo della resistenza
elettrica
della
Caseina
Vitellina
Sieroglobulina
Albumina d'uovo
7600
7400
7200
7000
6800
6600
6400
6200
6000
5800
5600
5400
5200
5000
4800
4600
4400
4200
4000
3800
3600
3400
3200
3000
2800
2600
2400
2200
2000
1800
1600
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55
60
65
70
75

## Proprietà chimiche dei prodotti ricavati dall' elettrolisi.

Dopo aver lasciato agire la corrente per un tempo variabile da 76-80 ore, versavamo immediatamente il contenuto dei due vasi in due recipienti di vetro, e ne ricercavamo la reazione, l'aspetto, l'odore.

In tutti i casi abbiamo sempre osservato che tanto al polo positivo, quanto al polo negativo si presentava una parte solida, la quale si raccoglieva più o meno rapidamente al fondo del vaso. Per decantazione oppure per filtrazione separavamo le due parti e su di esse facevamo le reazioni che servono a caratterizzare le sostanze proteiche ed i loro derivati immediati. Abbiamo posto soprattutto una cura speciale nel fare quelle reazioni che servono a svelare la presenza di aggruppamenti molecolari caratteristici nella molecola complessa proteide, onde poter stabilire come questi aggruppamenti si comportassero rispetto al loro potere elettrico. Per ragione di brevità e per rendere maggiormente evidente l'azione caratteristica del polo positivo e del negativo sopra le sostanze esaminate, abbiamo raccolto il risultato in tabelle che qui appresso presentiamo.

Nelle albumine e nella globulina si osservò una reazione acida al polo positivo ed una reazione alcalina al polo negativo. La caseina si mostrò neutra al polo positivo ed acida al polo negativo, la vitellina invece dà prodotti di reazione fortemente acida al polo positivo e di reazione debolmente acida al polo negativo. Questo diverso modo di comportarsi deve star certamente in relazione colla costituzione delle molecole e colla loro capacità di scindersi in prodotti diversi, secondo la durata dell' azione elettrica.

La parte solida che si forma per il passaggio della corrente attraverso all' albumina fu ritenuta essere la sostanza primitiva coagulata.

## Albumina del siero.

| Reattivo | Polo positivo | | Polo negativo | |
|---|---|---|---|---|
| | Parte solubile | Parte insolubile | Parte solubile | Parte insolubile |
| Reazione | Acida. | | Alcalina. | |
| Colore | Bianco-gialliccio. | | Bianco-sporco. | |
| Odore | Indefinibile. | | di liscivia. | |
| Calore | Non coagula. | | Coagula. | |
| HCl | — | — | — | — |
| $HNO_3$ | Precipita. | — | Precipita. | |
| Acido acetico | — | Si scioglie parzialmente a freddo, completamente a caldo. | — | Si scioglie. (2) |
| Na OH | Si fa opalescente. | Solubile. (1) | — | Insolubile. |
| $(NH_4)_2 SO_4$ | Precipita. | Precipita. | Precipita. | — |
| Acido acetico ed NaCl | — | — | — | — |
| Alcool assoluto | Precipita. | — | Precipita. | — |
| Tanret | Precipita. | — | Precipita. | — |
| Biureto | Reazione positiva. | — | Reazione negativa. | Reazione positiva. |
| Fehling | Riduzione debole. | — | Reazione chiara. | Reazione chiara. |
| Liebermann | Reazione negativa. | Reazione negativa. | Reazione chiara. | Reazione chiara. |
| Adamkiewicz | Reazione debole. | Reazione debole. | Reazione chiara. | Reazione chiara. |
| Millon | Reazione chiara. | Reazione chiara. | Reazione chiara. | Reazione chiara. |
| Xantoproteica | Reazione chiara. | Reazione chiara. | — | — |
| Furfurol | Colorazione rosea. | Colorazione rosea. | Colorazione rosea. | Colorazione rosea. |

(1) Le reazioni son fatte con questa soluzione.

(2) Le reazioni son fatte con questa soluzione.

## Albumina d'uovo.

| Reattivo | Polo positivo | | Polo negativo | |
|---|---|---|---|---|
| | Parte solubile | Parte insolubile | Parte solubile | Parte insolubile (2) |
| Reazione | Acida. | | Alcalina. | |
| Colore | Giallo. | | Bruno. | |
| Odore | Inodoro. | | Di liscivia. | |
| Calore | Non coagula. | — | Non coagula. | — |
| HCl | Non precipita. | Insolubile. | Precipitato di scarsi fiocchi insolubili a caldo. | — |
| $HNO_3$ | Precipitato scarso. | Insolubile. | — | — |
| Acido acetico | Fa effervescenza. | Solubile. | Precipitato scarso. | Parzialmente solubile. |
| NaOH | — | Solubile. (1) | Scarso precipitato fioccoso. | — |
| $(NH_4)SO_4$ (soluzione satura) | Precipitato scarso (1 volume). | — | Non precipitato con 1 volume, precipita con $1 + \frac{1}{2}$ volume. | — |
| Acido acetico e NaCl | Opalescente. | — | Precipita. | — |
| Alcool assoluto | Opalescente. | — | — | — |
| Acido acetico e ferrocianuro | Precipitato scarso. | — | — | — |
| Tanret | Scarso precipitato, insolubile a caldo. | — | Precipitato che si scioglie a caldo. | La soluzione in NaOH precipita e si scioglie a caldo. |
| Biureto | Porpora pallido. | Porpora pallido. | Color porpora. | Reazione chiara. |
| Fehling | Tracce. | — | Tracce. | Riduzione abbondante. |
| Liebermann | Reazione negativa. | Reazione negativa. | Reazione chiara. | Reazione chiara. |
| Adamkiewicz | Reazione negativa. | — | Reazione positiva. | Reazione positiva. |
| Millon | Reazione negativa. | Reazione debole. | Reazione positiva. | Reazione positiva. |
| Xantoproteica | Reazione positiva. | Reazione positiva. | Reazione positiva. | Reazione positiva. |
| Furfurol | Colorazione rosea. | Colorazione rosea. | Colorazione rosea. | Colorazione rosea. |
| Nessler | Reazione positiva. | Reazione positiva. | Reazione negativa. | Reazione positiva. |

(1) Le reazioni sono state fatte con questa soluzione.

(2) Le reazioni sono state fatte colla sostanza sospesa in acqua distillata.

## Globulina del siero.

| Reattivo | Polo positivo | | Polo negativo | |
|---|---|---|---|---|
| | Parte solubile | Parte insolubile | Parte solubile | Parte insolubile |
| Reazione | Acida. | | Alcalina. | |
| Colore | Gialliccio. | | Incolora. | |
| Odore | Astringente. | | Di liscivia. | |
| Calore | Incoagulabile. | — | Coagula abbondantemente. | — |
| HCl | Opalescente. | — | Opalescente. | — |
| $HNO_3$ | Precipita. | — | Precipita a freddo. | — |
| Acido acetico | Non precipita. | A freddo si fa gelatinosa, a caldo si scioglie. | Opalescente. | Solubile con sviluppo di gas. (2) |
| NaOH | Color caramella. | Solubile (1). | — | Insolubile, la soluzione acetica precipita. |
| $(NH_4)_2SO_4$ (Soluzione satura) | Precipita in fiocchi. | — | Con un volume si fa opalescente, con 1 + 1/2 precipita. | — |
| Acido acetico e NaCl | Precipitato abbondante. | — | Precipita a freddo. | Precipitato scarso. |
| Alcool assoluto | Con 5 volumi si fa opalescente e non dà fiocchi, sviluppa gas. | — | Precipitato fioccoso senza sviluppo di gas. | — |
| Acido acetico e ferrocianuro | Precipitato abbondate. | — | Precipitato. | Precipitato. |
| Tauret | Precipita e non si scioglie a caldo. | — | Precipita e non si scioglie a caldo. | Precipita e si scioglie in parte a caldo. |
| Biureto | Reazione positiva. | Reazione positiva. | Reazione positiva. | Reazione positiva. |
| Fehling | Riduce abbondantemente. | — | Riduce a color giallo. | Non riduce. |
| Liebermann | Reazione negativa. | Reazione positiva. | Reazione debole. | Reazione debole. |
| Adamkiewicz | Reazione negativa. | Reazione positiva. | Reazione debole. | Reazione debole. |
| Millon | Reazione positiva. | Reazione positiva. | Reazione positiva. | Reazione positiva. |
| Xantoproteica | Reazione positiva. | Reazione positiva. | Reazione positiva. | Reazione positiva. |
| Furfurol | Color roseo. | Reazione chiara. | Reazione negativa. | Reazione molto chiara. |
| Nessler | Color giallo intenso. | Reazione positiva. | Color giallo. | Reazione positiva. |

(1) Le reazioni sono state fatte con questa soluzione.

(2) Le reazioni sono state fatte con questa soluzione.

## Caseina.

| Reattivo | Polo positivo | | Polo negativo | |
|---|---|---|---|---|
| | Parte solubile | Parte insolubile | Parte solubile | Parte insolubile |
| Reazione | Neutro. | | Acida. | |
| Colore | Opalescente bianco pallido. | | Opalescente bianchiccio. | |
| Odore | Di cloro debole. | | Debole odor di cloro. | |
| Calore | Non coagula. | — | Non coagula. | — |
| HCL | — | Si scioglie in parte. | — | Si scioglie a freddo. |
| $HNO_3$ | — | — | — | — |
| Acido acetico | Fa sparire l'opalescenza. | Si scioglie. | Fa sparire l'opalescenza. | Si scioglie (2). |
| NaOH | — | Si scioglie (1). | — | Si scioglie in parte. |
| $(NH_4)_2SO_4$ (soluzione satura) | Con un volume precipitato scarso che si raccoglie in fiocchi con due volumi. | — | S'intorbida con un volume. | — |
| Acido acetico ed NaCl | Precipitato scarso. | Non precipita. | Non precipita. | — |
| | | | Precipitato scarso. | — |
| Alcool assoluto | — | — | S'intorbida leggermente. | Precipita. |
| Acido acetico e ferrocianuro | S'intorbida. | Non precipita | Precipita abbondantemente e si scioglie a caldo. | Precipitato scarso solubile in parte a caldo. |
| Tanret | Precipita e non si scioglie a caldo. | Precipita e si scioglie a caldo. | | |
| Biureto | Colorazione violacea. | Caratteristica. | Caratteristica intensa. | Debole |
| Fehling | Riduzione. | Non riduce. | Non riduce. | Non riduce. |
| Liebermann | Reazione negativa. | Reazione positiva. | Reazione negativa. | Reazione debole. |
| Adamkiewicz | Reazione negativa. | Reazione debole. | Reazione debole. | Reazione intensa. |
| Millon | Reazione negativa. | Reazione positiva. | Reazione negativa. | Reazione positiva. |
| Xantoproteica | Positiva. | Positiva intensa. | Positiva. | Positiva intensa. |
| Furfurol | Reazione debole. | Reazione intensa. | Colorazione rosea. | Reazione intensa. |
| Nessler | Reazione positiva. | Reazione positiva. | Reazione positiva. | Reazione positiva. |

(1) Le reazioni son fatte con questa soluzione.

(2) Le reazioni son fatte con questa soluzione.

**Vitellina del tuorlo d' uovo.**

| Reattivo | Polo positivo | | Polo negativo | |
|---|---|---|---|---|
| | Parte solubile | Parte insolubile | Parte solubile | Parte insolubile |
| Reazione | Fortemente acida. | | Acida debole. | |
| Colore | Rossiccio. | | Bianco. | |
| Odore | Fecale. | | Fecale poco pronunziato. | |
| Calore | Non coagula. | — | Non coagula. | — |
| HCl | Non precipita. | — | Si fa opalescente. | Solubile in piccola parte. |
| $HNO_3$ | Non precipita. | — | Precipita. | Insolubile. |
| Acido acetico | Non precipita. | Precipita. | Non precipita. | Si scioglie. |
| NaOH | — | Si scioglie. (1) | Si fa opalescente. | Si scioglie completamente. (2) |
| $(NH_4)_2SO_4$ (soluzione satura) | Non precipita. | — | Non precipita. | — |
| Acido acetico e NaCl | Non precipita. | Precipita. | Non precipita. | Non precipita. |
| Alcool assoluto | Non precipita. | Non precipita. | Non precipita. | Non precipita. |
| Acido acetico e ferrocianuro | Precipita. | — | Opalescente. | Non precipita. |
| Tanret | Precipita. | Precipita e non si discioglie a caldo. | Precipita e si scioglie a caldo. | Precipita abbondantemente. |
| Biureto | Reazione debole. | Reazione chiara a caldo. | Non dà la reazione. | Reazione evidente. |
| Fehling | Riduce. | Non riduce. | Riduce fortemente. | Non riduce. |
| Liebermann | Reazione negativa. | Reazione positiva. | Reazione negativa. | Reazione positiva. |
| Adamkiewicz | Reazione negativa. | Reazione positiva. | Reazione negativa. | Reazione positiva. |
| Millon | Reazione negativa. | Reazione positiva. | Reazione negativa. | Reazione positiva. |
| Xantoproteica | Reazione positiva debole. | Reazione intensa. | Reazione debole. | Reazione molto intensa. |
| Furfurol | Reazione positiva. | Reazione debole. | Reazione negativa. | Reazione negativa. |
| Nessler | Reazione positiva. | Reazione positiva. | Reazione positiva. | Reazione positiva. |

(1) Le reazioni sono state fatte con questa soluzione.

(2) Le reazioni sono state fatte con questa soluzione.

I caratteri più importanti che appaiono dalle reazioni sopra riferite ci permettono di rilevare alcuni dati, coi quali è possibile differenziare fra di loro le sostanze proteiche. Dal punto di vista biologico interessa soprattutto paragonare fra di loro l'albumina dell'uovo coll'albumina del siero.

Prima di procedere a questo esame, occorre che facciamo una annotazione. Sebbene l'elettrolisi sia stata protratta per 80 ore circa, non possedevamo alcun dato per stabilire quando tutta l'albumina primitiva fosse stata trasformata dall'azione della corrente. Ne segue che le reazioni venivano da noi praticate sopra miscele, in cui poteva ancora trovarsi della sostanza primitiva inalterata, e non potevamo perciò aspettarci di avere una chiarezza assoluta di risultato, tale da poter escludere completamente la presenza di una piccola porzione della sostanza primitiva, oppure dei primi prodotti della sua trasformazione. Perciò alcuni caratteri non potevano essere così evidenti, come lo sarebbero certamente stati se avessimo potuto eliminare la possibilità di questa mescolanza. Il comportamento verso ciascun reattivo quale venne da noi indicato, è quello che si presentava più evidente.

Il primo carattere osservato che serve a differenziare l'albumina d'uovo dall'albumina del siero, è quello che si riferisce al modo di comportarsi dei prodotti ottenuti al polo negativo rispetto all'azione del calore. Dopo l'elettrolisi l'albumina del siero contiene ancora composti capaci di coagulare, mentre l'albumina dell'uovo è completamente insensibile al calore.

Per la ragione sopra detta non possiamo trarre delle conclusioni dal modo di comportarsi rispetto ad una soluzione satura di solfato di ammonio ed alla reazione del biureto. Le differenze osservate con questi reattivi si riducono a gradi differenti dall'intensità, colla quale la reazione si manifestava, è probabile che ciò dipenda solamente da una differente resistenza dalle due varietà di albumina di fronte all'azione dell'elettricità, e saranno necessarie ulteriori ricerche per stabilire l'entità di queste differenze. Nelle due forme di albumina si notò però molto evidente la reazione del biureto, in quella

parte che si deposita sotto forma di sostanze insolubili al polo negativo.

Gli aggruppamenti caratteristici che danno luogo alle reazioni del *Liebermann* e dell'*Adamkiewicz* hanno nelle due sorta di albumina tendenza ad accumularsi al polo negativo.

Gli aggruppamenti capaci di ridurre il liquido di *Fehling* nell'albumina d'uovo hanno tendenza a raccogliersi nella parte insolubile che si deposita al polo negativo, mentre nell'albumina del siero di sangue di bue si presentano tanto nella parte solubile quanto in quella insolubile dello stesso polo.

Nell'albumina d'uovo la reazione del *Millon* si mostra ben evidente solamente nella parte sottoposta all'azione del polo negativo, mentre nella albumina del siero fu da noi riscontrata in egual misura nei due poli.

Le reazioni presentate dalla globulina erano meno evidenti, e ciò si comprende pensando alla sua proprietà di esser insolubile nell'acqua distillata, condizione la quale fa sì che l'azione della corrente elettrica sopra di essa sia assai più limitata, e si debba forse riferire esclusivamente, nei primi momenti almeno, all'azione dei ioni idrogeno ed ossigeno, che il passaggio della corrente mette in libertà dall'acqua distillata in cui veniva sospesa la globulina. La globulina presenta come l'albumina del siero la proprietà di dare una miscela coagulabile col calore nella parte sottoposta all'azione del polo negativo.

È carattere distintivo importante fra le due il fatto che la parte insolubile del polo positivo, la quale, per la ragione sopra detta bisogna ammettere sia composta da una miscela di globulina inalterata, e dei prodotti originatisi per l'elettrolisi, quando viene trattata con acido acetico si scioglie con sviluppo dei gas che si sprigionano lentamente per un tempo molto lungo.

Per la stessa ragione non crediamo di fermarci sopra le differenze che i prodotti ottenuti dalla globulina presentano rispetto e quelli ottenuti dall'albumina di fronte alle reazioni di *Liebermann* e di *Adamkiewicz*. Sotto questo rispetto crediamo necessarie delle ricerche più minute. Nella globulina abbiamo

notato un forte potere riduttore per il liquido del *Fehling* nella parte che passa in soluzione ai due poli, la riduzione, quantunque non sia stata dosata, per la rapidità e per l'intensità si mostrò incomparabilmente superiore a quella ottenuta coll'albumina.

Le due nucleoalbumine studiate presentano esse pure dei caratteri differenziali, e primo di tutti quello della reazione delle due porzioni sottoposte ai due poli, il polo positivo nella caseina ha reazione neutra, mentre nella vitellina ha reazione acida. La parte che rimane insolubile al polo positivo della vitellina si scioglie la soluzione di soda caustica e viene precipitata dall'acido acetico, mentre la corrispondente porzione della caseina si scioglie direttamente per azione dell'acido acetico.

Le parti sciolte dei due poli nella vitellina non sono precipitate alla soluzione satura di solfato di ammonio, mentre le corrispondenti porzioni derivate dalla caseina sono precipitate da quel reagente.

Uno sguardo alle tabelle è sufficiente per mettere in evidenza i caratteri differenziali tra il comportamento delle nucleo-albumine e quello delle albumine, perciò non istaremo a far notare le differenze che esse ci rivelano.

Le conoscenze attuali sulla causa delle scomposizioni elettrolitiche c'induce a ritenere che il carattere generale dei corpi ottenuti dall'azione dei due poli debba ascriversi all'azione dei ioni dell'acqua posti in libertà in corrispondenza dei medesimi, e non crediamo di esser molto lungi dal vero considerando come prodotti di ossidazione i prodotti ottenuti al polo positivo e come prodotti di riduzione o forse di idrogenazione quelli ottenuti al polo negativo. È ammesso generalmente che il processo di azione dei fermenti digestivi delle sostanze proteiche sia da considerarsi come un processo di idratazione, ed è ritenuta come una delle reazioni caratteristiche dei peptoni la reazione del biureto. In generale noi possiamo asserire di aver riscontrato più chiara questa reazione precisamente al polo negativo, talora nella parte solubile, altre volte invece nella parte insolubile. Occorreranno maggiori dati per stabilire quale possa esser la causa di queste piccole differenze tra i diversi

corpi studiati, un fatto però richiama ora la nostra attenzione. La parte solubile ottenuta dalla vitellina al polo negativo presenta molti caratteri dei peptoni, come quello di non esser precipitabile dalla soluzione satura di solfato d'ammonio, di dare un precipitato solubile al calore col reattivo del *Tanret* e ciò malgrado la reazione del biureto risultò negativa, mentre era evidente nelle due porzioni insolubili ottenute ai due poli. Richiamiamo l'attenzione sopra questo fatto semplicemente per il suo significato fisiologico e non per il significato chimico che esso può avere, perchè ci pare ancora troppo scarso il corredo di dati posseduti sulla composizione dei peptoni malgrado le belle ricerche di *Siegfried* (1). Se il fatto verrà confermato bisognerà concludere che non tutti i corpi proteici sono capaci di dar origine a peptoni aventi una disposizione atomica $CONH^2$, quale sarebbe secondo lo *Schiff* (2) necessario perchè si possa ottenere la reazione del biureto.

---

(1) M. Siegfried, *Ueber Fleischsäure.* (Arch. f. Anat. u. Physiol., physiologische Abth., 1894, pag. 401, Zeitsch. f. physiol. Chemie, V. 21, pag. 360; Vol. 22, pag. 575; Vol. 27, pag. 335; Vol. 28, pag. 524).

(2) H. Schiff, *Ber. der deutsch. chem. Ges.*, Bd. 29, II, pag. 1354.

Dal Laboratorio di Anatomia Patologica della R. Università di Pavia
diretto dal Prof. A. Monti.

# SOPRA ALCUNI CASI
DI
# ENDOCARDITE DIPLOCOCCICA DEL CUORE DESTRO NELL'ADULTO.

CONTRIBUTO ALLO STUDIO DELLE ENDOCARDITI.

RICERCHE ANATOMICHE E SPERIMENTALI

DEL
**DOTT. FERDINANDO STRADA**
Settore.

È abbastanza raro di incontrare nelle autopsie una lesione un po' grave della metà destra del cuore; tanto che i clinici, fino a non molto tempo addietro, credettero di potere, in fatto di lesioni valvolari cardiache, occuparsi soltanto delle lesioni mitraliche ed aortiche.

A poco a poco, veramente, col ripetersi delle osservazioni, s'è venuto alquanto modificando il concetto primitivo della estrema rarità delle alterazioni del cuore destro, e molto numerosi sono oggi i casi registrati nella letteratura (*Colomiatti* (1), *Bozzolo* (2), *Haushalter* (3), *Malvoz* (4), *Netter* (5), *Bramwell* (6), *Jaccoud* (7), *Bruhl* (8), *Walter Smith* (9), *Combemale* (10), *Luzet* (11), *Roustan* (12) ecc. ecc.)

(1) Archivio per le Scienze Mediche, 1892.
(2) Giornale R. Acc. Medic. Torino, 1882-83; Riforma medica, 1892.
(3) Revue de Médecine, 1888.
(4) Revue de Médecine, 1889.
(5) Archives de Physiologie normale e pathol., 1886, Vol. 2°.
(6) Amer. Journ. of Med. Sc., 1886.
(7) Union médicale, 1889.
(8) Gazette des Hôpitaux, 1900.
(9) The Dublin Journ. of med. sc., 1886.
(10) Bull. médical du Nord, 1891.
(11) Archives générales de Médecine, 1891.
(12) Bull. de la Soc. Anat., 1886.

Fra le forme di endocarditi infettive che con maggiore frequenza si localizzano anche sul cuore destro, va annoverata l'endocardite dovuta al diplococco di *Fraenkel-Talamon*, sia che essa insorga contemporaneamente al processo polmonare, o consecutivamente a questo, sia che si presenti, come apparirebbe da qualche caso, come localizzazione primitiva dell'infezione diplococcica.

I tre casi di endocardite del cuore destro che io ho raccolto, sono appunto dovuti al diplococco di *Fraenkel.*

In due casi l'alterazione è esclusivamente localizzata sul cuore destro, e precisamente in un caso esclusivamente sulla tricuspide, nell'altro sulle valvole sigmoidee dell'arteria polmonare: nel terzo caso, per quanto prevalente nel cuore destro, interessa però in grado leggero anche il cuore sinistro.

**I Caso.** — Trattasi di un uomo di 74 anni, Luigi C. morto il 23 marzo 1898 nella Clinica medica propedeutica, in seguito a polmonite. Nulla di notevole nella storia clinica. Mancarono in vita i sintomi di una endocardite.

All'autopsia si riscontrò abbondante liquido cefalo-rachidiano limpido, già evidente sulla superficie convessa del cervello, molto abbondante poi nei ventricoli cerebrali.

Notevole atrofia di alcune circonvoluzioni, specialmente delle frontali.

Ateroma abbastanza avanzato dei vasi della base del cervello, spiccatissimo nella silviana sinistra.

All'apertura del torace si riscontra scarso liquido citrino, limpido nel cavo pleurico, da ambedue i lati. Aderenze non molto estese, di antica data, fra le due pagine della pleura, da ambo i lati. Su entrambi gli apici polmonari la pleura viscerale presenta un ispessimento in forma di una placca biancastra dura, resistente al taglio, di aspetto e di consistenza cartilaginea, della grandezza di circa 2 cm. e dello spessore di 3-4 millimetri.

Nei polmoni si ha notevole ipostasi nel lobo inferiore del polmone destro. Epatizzazione rossa nel lobo inferiore del polmone sinistro. Enfisema bilaterale, visibile specialmente sui margini anteriori del polmone, e di grado piuttosto notevole. Catarro diffuso nei grossi e nei piccoli bronchi, tanto nel polmone destro che nel sinistro. All'apertura del cavo pericardico si trova poco liquido citrino (circa 30 cmc.).

Il cuore si presenta discretamente aumentato di volume; più dilatato che ipertrofico; notevole specialmente la dilatazione del cuore destro. Abbondante infiltrazione adiposa sottoepicardica. Le arterie coronarie si

presentano piuttosto dure, con decorso tortuoso; il muscolo cardiaco appare flaccido, di colorito giallastro. All'apertura delle cavità non si riscontra nulla degno di nota nel cuore sinistro, se si eccettua un certo ispessimento dei pizzi della valvola mitrale e dell'aorta, con qualche piccola placca consistente, di colorito giallastro sporco.

Nel cuore destro invece, oltre all'ispessimento dei pizzi della tricuspide e di tutto l'endocardio sia del ventricolo che dell'orecchietta, si notano sulla tricuspide in vicinanza del suo margine libero, sulla superficie che guarda l'orecchietta, quattro piccole sporgenze, tre delle quali ulcerate, crateriformi, del diametro di 4-5 millimetri. Nei punti ulcerati l'endocardio è molto assottigliato, senza che si abbia per altro perforazione della valvola.

All'esame degli organi della cavità addominale troviamo il fegato piuttosto duro, di volume un po' diminuito, di colorito brunastro, con note di stasi.

Milza di volume normale, ma molto molle, spappolabile, di colorito bruno nerastro.

**II Caso.** — Si tratta di un individuo di 74 anni, Vitaliano De M. falegname, morto nella Infermeria U nell'aprile 1900 in seguito a polmonite crupale.

Nulla di notevole nella storia clinica. La polmonite non ebbe però un decorso tipico. Cominciò nel lobo inferiore sinistro; si diffuse poi anche al lobo superiore, e si protrasse in modo subdolo per oltre tre settimane. La febbre che non raggiunse mai un grado molto elevato ebbe pure un decorso assai irregolare, e non si ebbe una vera defervescenza per crisi.

Anche in questo caso non fu possibile la diagnosi in vita dell'endocardite.

All'autopsia si riscontrò: Note rachitiche. nello scheletro.

Congestione molto spiccata delle meningi e del cervello. Lepto meningite purulenta, con abbondante essudato denso, cremoso, tanto alla base che sulla faccia superiore del cervello. L'essudato purulento si trova pure molto abbondante nei ventricoli laterali e nello speco vertebrale fino alla coda equina. Ateroma abbastanza avanzato nei vasi della base. Il torace offre una notevole deformità; si presenta spiccatamente carenato, imbutiforme. Leggera scoliosi destra.

All'apertura del torace si nota nel cavo pleurico sinistro una discreta quantità di liquido siero-purulento torbido, con grossi fiocchi fibrinosi (circa 200 cmc.) Aderenze pleuriche recenti. La superficie della pleura è ricoperta da pseudomembrane fibrinose piuttosto spesse.

Nel cavo pleurico destro, scarsa quantità di liquido limpido, citrino; qualche piccola aderenza di antica data, non molto resistente. Il polmone sinistro si presenta ingrossato in tutti e due i suoi lobi, e di consistenza epatica. Al taglio appare di colorito grigiastro (epatizzazione grigia).

Il polmone destro non presenta che un certo grado di ipostasi nel lobo inferiore, con leggero edema. Notasi un infarto recente della grossezza di una noce, ed altro più piccolo, nel lobo inferiore. Il pericardio appare un po'ispessito; scarso liquido sieroso, limpido, nel cavo pericardico.

Il cuore si presenta notevolmente aumentato di volume. Abbondante infiltrazione adiposa sotto-epicardica.

Il muscolo cardiaco è flaccido, di colorito pallido, giallastro. I vasi coronarî sono rigidi a decorso tortuoso.

All'apertura delle cavità del cuore, si trovano abbondanti coaguli fibrinosi.

All'ispezione degli apparecchi valvolari, si riscontrano sulla tricuspide sulla superficie che guarda l'orecchietta due grosse vegetazioni di colorito roseogrigiastro; la più grossa di forma conica, a superficie piuttosto liscia, ha una altezza di oltre 1 cm., una larghezza alla base di circa 7-8 millimetri; l'altra, più appiattita, ha una altezza di circa 4 millimetri, un diametro di 6-7 millimetri, e si presenta leggermente erosa in superficie. All'esame del cuore sinistro si riscontra una piccola vegetazione, analoga alle sopra descritte, sulla valvola mitrale.

Ateroma non molto avanzato sull'aorta e sulle valvole sigmoidee aortiche.

All'esame degli organi della cavità addominale si trova fegato da stasi, con aspetto noce moscata.

Milza grossa, molle, facilmente spappolabile, di colorito bruno nerastro.

In entrambi questi casi tanto l'esame diretto che le colture eseguite dal polmone, e dal sangue (anche dal pus delle meningi e dalle vegetazioni endocardiche nel 2° caso) dimostrarono la presenza del diplococco lanceolato, e soltanto di questo microrganismo.

**III Caso.** — È molto interessante oltre che per il reperto anatomo-patologico, anche per la storia clinica. La riassumo brevemente, dai dati alquanto incompleti fornitimi dai medici curanti.

B. Luigi di anni 62, contadino, da Sannazzaro, entra nell'Ospedale S. Matteo il 26 gennaio 1901.

L'ammalato accusa dei dolori all'articolazione del ginocchio sinistro, e alle articolazioni tibio tarsica e radio carpica sinistra, le quali si presentano leggermente tumefatte.

Per la prima volta l'ammalato soffre di questi dolori articolari, che insorsero improvvisamente, due o tre giorni prima, senza causa nota. L'ammalato non è alcoolista, non ebbe sifilide. Negativo l'esame

del cuore e dei polmoni. Solo si rileva qualche rantolo sparso e note di enfisema polmonare.

La temperatura nei primi 4 o 5 giorni oscilla fra 37°,2 e 37°,3 la mattina; 38°,5 e 38°,8 la sera. Solo una volta (giorno 30) tocca i 39°,5.

Persistono i dolori e la tumefazione al ginocchio sinistro, alle articolazioni tibio-tarsica e radio-carpica sinistra.

All'articolazione del ginocchio si rileva ben presto la presenza di una raccolta liquida. Le articolazioni interessate sono dolenti, sia spontaneamente sia al tatto anche superficiale. Il dolore non è lancinante ma continuo; la cute si presenta alquanto arrossata, la temperatura locale un po' aumentata.

Qua e là lungo l'arto inferiore si hanno chiazze diffuse rossastre simili a quelle che si riscontrano nelle forme di linfangioite. Si cura con salicilato di soda, antipirina, iniezioni di morfina.

Il giorno 30 si fa una puntura esplorativa all'articolazione del ginocchio, e si estrae un liquido sieroso torbido.

La temperatura oscilla nei giorni successivi fra 37° e 37°,2 la mattina; fra 37°,8 e 38° la sera; di rado qualche decimo di grado in più.

La tumefazione delle varie articolazioni persiste; però è meno dolente al tatto; la cute è pochissimo arrossata e la temperatura locale è appena sensibilmente superiore al resto del corpo: si nota leggero edema, molle, facilmente compressibile. Sul fondo bianco dei tegumenti spiccano assai manifeste le vene di colorito bluastro.

Il giorno 8 notasi la comparsa di un forte edema alla coscia sinistra, fino alla piega dell'inguine; edema indolente, che fa pensare ad una trombosi della safena.

La temperatura col giorno 10 diventa presso che normale con 36°,9-37° la mattina, 37°,2-37°,3 la sera. Col giorno 12 si ha 36°,5-36°,8 la mattina; 37°, di rado 37°,1-37°,2 la sera.

Improvvisamente il giorno 17 alle ore 14 si nota un 40°,1. Nei giorni successivi la temperatura oscilla fra 37°,7 e 38°, talora 38°,5 la mattina e fra 38°,5 e 39°, fino a 39°,6 la sera.

Le condizioni dell'ammalato vanno rapidamente peggiorando. Il giorno 20 i medici curanti avvertono che i toni del cuore, dapprima puri, non lo sono più; si avvertono dei soffi, si pensa ad un processo di endocardite, ma date le condizioni gravi dell'infermo non si riesce a localizzarlo.

Si nota altresì la comparsa di abbondanti rantoli a grosse bolle sparsi su tutto l'ambito polmonare. Mancano però i segni evidenti di un processo di polmonite. Il giorno dopo si ha lo sputo croceo, e compare una certa ottusità alla base del polmone sinistro. Le condizioni generali diventano gravissime. L'ammalato muore il 27 febbraio alle ore 7. Si eseguisce l'autopsia il 28 alle ore 13.

All'esame esterno del cadavere si nota tumefazione in corri-

spondenza dell'articolazione del ginocchio sinistro e, più leggera, anche in corrispondenza delle articolazioni radio-carpica e tibio-tarsica sinistre. Edema diffuso all'arto inferiore sinistro.

*Capo.* — Dura madre ispessita, madreperlacea, molto aderente alla calotta cranica. Pie meningi pure ispessite e congeste. Aumento del liquido cefalo-rachidiano negli spazi sottoaracnoidei e nei ventricoli cerebrali. Cervello congesto.

*Torace.* — Aderenze pleuriche di antica data, da ambo i lati. A sinistra nel cavo pleurico circa 500 cmc. di liquido giallo rossigno torbido, a destra piccola quantità di liquido. Enfisema polmonare molto avanzato in entrambi i polmoni. Il destro si presenta edematoso, con numerose bronchiettasie di calibro diverso. Il sinistro presenta epatizzazione rossa nel lobo superiore, epatizzazione in uno stadio intermedio fra il rosso e il grigio nel lobo inferiore. Si nota nel lobo inferiore un infarto recente, della grossezza di una noce.

Nel pericardio si trova una piccola quantità di liquido citrino limpido.

Il cuore è molto flaccido, di colorito giallastro. Si presenta aumentato di volume. Notevole la dilatazione del ventricolo destro. All'apertura delle cavità si osserva l'endocardio leggermente ispessito, tanto nei pizzi valvolari che sulle pareti delle cavità.

Nulla di notevole negli orifizi valvolari del cuore sinistro. Nulla sulla tricuspide. Le valvole sigmoidee della arteria polmonare presentano invece una alterazione molto spiccata. Tutte e tre sono molto spesse (2-3 mm.) e coperte da numerose vegetazioni di varia grossezza, da un granello di miglio ad un pisello. Sopra una di esse trovasi una grossa vegetazione della grossezza di una nocciuola. Le vegetazioni non sembrano ulcerate. Solo in qualche punto si ha qualche leggera erosione.

*Addome.* — Fegato grasso. Milza alquanto ingrossata, nerastra, molle. Reni in degenerazione grassa, e con segni di nefrite acuta.

Si praticano delle incisioni lungo l'arto inferiore sinistro. Si nota edema del cellulare sottocutaneo e dei muscoli.

Ghiandole linfatiche inguinali voluminose, succulente.

Aperta l'articolazione del ginocchio ne esce abbandante pus, poco denso, di colore gialliccio. Pus si trova pure nelle articolazioni tibio-tarsica e radio-carpica sinistra.

Si tratta di una forma di artro sinovite purulenta. La cartilagine è solo leggermente erosa in qualche punto. I capi articolari non sono interessati dal processo.

Si fanno colture in brodo, in siero umano glicerinato, in agar glicerinato, dal pus dell'articolazione del ginocchio (aperta

con tutte le cautele antisettiche) dalle vegetazioni valvolari, dal sangue e dal polmone, e preparati diretti dal sangue, dal polmone e dal pus.

Si fanno poi delle piastre in agar, agar glicerinato e agar siero, dai diversi punti.

Per eseguire le colture dalle vegetazioni valvolari, se ne lava una accuratamente in superficie (lasciandola aderente alla valvola sulla quale è impiantata) con soluzione di sublimato, poi con alcool e etere.

Per maggiore sicurezza si scotta in un punto in superficie con un bisturì arroventato; poi attraverso la superficie scottata si incide a tutto spessore con un bisturì sterilizzato, e si semina penetrando con un'ansa di platino proprio al centro della vegetazione.

I preparati diretti dal pus, dal sangue e dal polmone, colorati coi soliti mezzi, dimostrarono la presenza di numerosi diplococchi, (identici al diplococco di *Fraenkel*) e soltanto di diplococchi.

Nelle colture sia dal sangue che dalle vegetazioni valvolari, dal polmone e dal pus delle articolazioni si sviluppò il diplococco in coltura pura.

Il diplococco così coltivato e inoculato nei soliti animali da esperimento, si dimostrò abbastanza virulento, specialmente quello isolato dal polmone, dal sangue e dalle vegetazioni valvolari, un po' meno quello ottenuto dal pus dell'articolazione.

I conigli inoculati nel cavo pleurico con 2 cmc. circa di pus dell'articolazione del ginocchio morirono uno al 7°, uno all'8° giorno. Un altro coniglio però non venne a morte. I conigli inoculati pure nella pleura con colture in brodo di 24-30 ore a 37° (alla dose di 1 $^1/_2$-2 cmc.) ottenute dal pus del ginocchio morirono uno al 6°, uno al 7° giorno. Un coniglio al quale, insieme alla coltura in brodo di pneumococco del pus del ginocchio (2 cmc.) si inoculò 1 cmc. di coltura in brodo di proteo di 15 giorni, previa sterilizzazione coll'ebollizione, morì al 3° giorno.

Colle colture in brodo ottenute dalle vegetazioni valvolari, i conigli morirono in 3ª, 4ª giornata.

Un coniglio inoculato nel cavo pleurico con 2 cmc. di brodo nel quale si era stemperato un pezzetto di polmone in istato di epatizzazione rossa, morì in circa 30 ore, con formazione di abbondante essudato fibrinoso purulento.

Col metodo *Rosembach* ho riprodotto l'endocardite sperimentale nel coniglio.

A questo scopo ferivo le valvole semilunari aortiche penetrando con uno stiletto sterile attraverso la carotide destra. Subito dopo iniettavo sotto cute $^1/_2$-1 cmc. di coltura in brodo di diplococco. Ad evitare che la morte avvenisse troppo rapidamente, usavo colture attenuate (colture di 2 giorni in brodo tenute vive con successivi trasporti giornalieri per 5-6 giorni, senza inocularle negli animali).

In un caso il coniglio morì al 4° giorno e si riscontrò all'autopsia una bellissima endocardite verrucosa, (in forma di 2 nodetti grossi come un grano di miglio) su una delle valvole sigmoidee aortiche, e sulla mitrale che era stata leggermente scalfita dallo stiletto dopo che questo aveva attraversato la sigmoidea aortica.

In un secondo caso la morte avvenne dopo 5 giorni, e anche qui si riscontrò una tipica endocardite verrucosa delle valvole aortiche.

In un terzo caso, siccome il coniglio non veniva a morte anzi appariva completamente rimesso, fu ucciso al 10° giorno. Non si riscontrò, malgrado un esame accuratissimo, nessuna lesione valvolare.

Molto probabilmente non si era riusciti a lacerare le valvole; a meno che non si voglia pensare che la lesione fosse molto lieve e fosse già passata a guarigione.

Il caso clinico da me riferito, si presta ad alcune considerazioni.

Noi abbiamo un'affezione articolare che ha preceduto lo sviluppo di una endocardite la quale a sua volta, con ogni probabilità, si è sviluppata prima della polmonite.

Circa la natura del processo primitivo dell'articolazione, poichè fu trascurato l'esame del liquido estratto in vita colla puntura esplorativa, non possiamo con assoluta certezza affer-

mare si trattasse di una infezione diplococcica, quantunque i dati clinici non possano farcelo escludere.

Che il diplococco possa, sia primitivamente, sia in seguito ad altre affezioni (polmonite-endocardite) localizzarsi anche nelle articolazioni, producendovi una artrite siero-purulenta, è ormai dimostrato da numerose osservazioni cliniche e da prove sperimentali.

Dopo le prime osservazioni di *Chomel*, *Andral*, *Gintrac*, di lesioni articolari consecutive alla polmonite, che essi però riferirono al reumatismo articolare, *Grisolle* pel primo notò che queste artriti avevano un andamento speciale, e le paragonò più giustamente alle artriti della pioemia. Anche *Bozzolo* (1) tenne conto di questa complicazione nelle sue osservazioni del 1882, citando un caso di complicazione della polmonite con artrite purulenta del cubito.

Coi progressi della batteriologia, trovato il microbio della polmonite, lo si cercò pure nelle articolazioni.

Già *Schuller* (2) nel 1884 descrisse dei microrganismi nel pus delle artriti meta-pneumoniche, ma non si sa se fossero pneumococchi poichè egli non fece colture e si accontentò dello esame microscopico.

Lo stesso dicasi dei reperti di *Bourcy* (3) e di *Maragliano* (4).

Più completi furono gli studi di *Weichselbaum* (5), di *Netter* (6), *Guarneri* (7), *Foà* e *Bordoni-Uffreduzzi* (8), di *Monti* (9), di *Belfanti* (10) ecc.

La riproduzione sperimentale dell'artrite, che *Foà* e *Bor-*

---

(1) Giornale dell'Acc. di Medicina di Torino, 1882.

(2) Berl. Klin. Wochens., 1884.

(3) *Des determinations articulaires des maladies infectieuses.* (Thèse de Paris, 1883).

(4) *Complicazione articolare della pneumonite fibrinosa.* (Riforma Medica, 1887).

(5) *Ueber seltenere Lokalisationen des pneumonischen Virus.* (Wiener Klin. Wochens., 1888, n° 28-32).

(6) *Le pneumocoque.* (Revue. Archives de Médec., experim., 1890).

(7) *Studi sull' eziologia della polmonite.* (Atti della R. Accad. medica di Roma, 1888-89, Vol. 4°, Serie II).

(8) Zeitschrift f. Hygiene, Bd. IV, 1888.

(9) *Sull' eziologia del reumatismo articolare acuto.* (Riforma medica, 1889).

(10) *Intorno alle localizzazioni del pneumococco.* (Gazzetta degli Ospedali, 1889).

*doni-Uffreduzzi* avevano osservato accidentalmente nel coniglio in seguito a iniezioni sottocutanee di colture di diplococco, fu ottenuta da *Cornil* coll'iniezione nelle articolazioni di un coniglio del pus di una artrite meta-pneumonica; da *Monti*, *Gabbi*, *Macaigne* e *Chipault* ecc., coll'iniezione del pneumococco in coltura pura.

*Gabbi* (1) il quale fece lo studio più completo in proposito, osservò che la inoculazione del pneumococco nelle articolazioni provoca sempre una artrite sieroso-purulenta, nella quale i diplococchi sono scarsi e attenuati.

Invece la inoculazione sottocute produce solo di rado una artrite, anche se si irritano le articolazioni con spilli. Se poi nella articolazione fu iniettata preventivamente della trementina, l'artrite che si ottiene è più intensa di quanto sarebbe stata se si fosse iniettata trementina sola, ma non si trovano diplococchi nella articolazione.

Sono adunque necessarie per ottenere una manifestazione articolare, delle condizioni locali; poichè negli animali, mancando queste, se lo pneumococco è troppo virulento si ha la morte per setticemia e l'artrite non ha tempo a formarsi: — se è attenuato l'animale guarisce senza che lo pneumococco abbia agito sulle sierose articolari.

Lo stesso fatto si verifica nell'uomo nel quale bisogna ammettere che il virus arrivi nelle articolazioni per la via del sangue, e tuttavia si constata quanto rara sia questa localizzazione in confronto delle altre sierose. Intervengono qui senza dubbio delle condizioni di varia resistenza che sfuggono all'osservazione.

Sarebbe certamente importante determinare quali condizioni predisponenti nelle articolazioni favoriscano l'innesto dello pneumococco. A questo proposito ben poco si sa ancora.

*Widal* (2), comunicando un caso occorsogli di artrite pneumococcica della prima articolazione metatarso falangea destra concomitante a pericardite purulenta pure pneumococcica, in un soggetto saturnino, accusa un precedente deposito di sali

(1) *Artrite sperimentale da virus pneumonico.* (Lo Sperimentale, 1889).
(2) *Arthrites à pneumocoques.* (Presse médicale, 1886).

urici nell'articolazione quale causa determinante la localizzazione infettiva.

*Duflocq* e *Ledamany* (1) fecero la storia di parecchi casi di artriti multiple da pneumococco — limitate alle articolazioni colpite prima da reumatismo cronico deformante.

L'influenza dei traumatismi sulla localizzazione del pneumococco nelle sierose articolari durante il processo pneumonico, fu dimostrata oltre che dalle esperienze del *Gabbi* e di altri, anche da alcuni casi clinici.

*Marcantonio* (2) riporta un caso di artrite diplococcica della spalla destra (con diffusione ai muscoli) consecutiva a polmonite in un individuo che parecchi anni prima aveva riportato, in seguito a caduta, un fortissimo trauma su questa spalla; trauma che oltre ad avergli impedito di lavorare per circa 2 mesi, gli aveva cagionato in seguito dolori continui, specialmente negli sforzi muscolari.

L'A. è perciò indotto ad ammettere che fra le cause coadiuvanti di alcune lesioni extrapolmonari del pneumococco, possano figurare, oltre che i traumatismi nell'atto dell'infezione, anche quelli verificatisi antecedentemente, se però non furono lievi e di effetto transitorio.

Circa l'influenza del reumatismo articolare acuto sulle successive localizzazioni dello pneumococco, occorre appena ricordare l'ipotesi stata avanzata da alcuni autori, che appunto anche il reumatismo articolare acuto sia da attribuirsi allo pneumococco.

*Foà* e *Bordoni-Uffreduzzi* (3) pei primi osservarono che come si era dimostrato doversi allo pneumococco quelle affezioni che un tempo costituivano le malattie reumatiche per eccellenza, così si poteva riferire alla stessa causa anche il reumatismo articolare acuto. Essi ammisero che l'infezione diplococcica può localizzarsi sin da principio nelle varie articolazioni, producendo il quadro ordinario di una poliartrite così detta reumatica.

---

(1) Bull. de la Soc. médic. des Hôpitaux, 29 avril 1897, p. 589.

(2) *Contribuzione alle localizzazioni extrapolmonari del pneumococco.* (Riforma medica, 1896, 1°).

(3) Loco citato.

*Guarneri* (1) avendo osservato un caso di reumatismo articolare con endocardite, cui seguì polmonite; ed avendo isolato dall'endocardio lo pneumococco, è pure inclinato ad ammettere la stessa ipotesi.

A questa si accosta anche *Tombolan-Fava* a proposito di un caso che citeremo in seguito.

Ma le ricerche ulteriori rimisero le cose a posto.

La possibilità dell'insorgenza di una mono o poli-artrite diplococcica nel decorso di una polmonite, ed anche indipendentemente da questa, non autorizza a generalizzare, riferendo allo pneumococco, la patogenesi del reumatismo articolare acuto. Anche i reperti batteriologici dei vari autori in casi di reumatismo articolare acuto, non accertarono mai la presenza dello pneumococco.

Nel nostro caso, ammettendo che il processo iniziale nelle articolazioni fosse da attribuirsi al reumatismo articolare acuto, si potrebbe ammettere l'influenza di esso nel predisporre l'articolazione all'innesto dello pneumococco.

L'artrite pneumococcica può, come abbiamo detto, essere consecutiva alla polmonite o ad altra affezione diplococcica, oppure può svilupparsi indipendentemente da esse.

L'artrite meta-pneumonica è una complicazione rara. Secondo *Netter* la media delle varie statistiche darebbe il 0,14 per cento. Nell'Ospedale della Charité di Berlino su 3293 casi di polmonite (occorsi dal 1874 al 1889) se ne ebbero solo 2 casi. Nella Clinica di Monaco su 650 polmoniti (in 11 anni), un solo caso. In varie Cliniche di Prussia, con un totale di 1215 polmoniti, 3 casi. Questa forma di artrite colpisce più di sovente una sola articolazione, ma talora parecchie insieme.

Secondo *Netter* avrebbe una predilezione per gli arti superiori, e più specialmente per l'articolazione della spalla. Del resto tutte le articolazioni possono essere colpite. Articolazione della spalla (*Weichselbaum* (2), *Marcantonio* (3), *Orthmann* (4)), del

(1) l. c.
(2) l. c.
(3) l. c.
(4) *Beitr. z. Lokalisation d. diploc. Pneum.* (Virchow's Archiv, 1890, Bd. 120).

ginocchio (*Picqué* [1], *Popescu* [2]; *Macaigne* [3]), del cubito (*Bozzolo* [4], *Chantemesse* [5]), articolazione metacarpo falangea del 5° dito (*Monti* [6]), articolazione dell' alluce (*Belfanti* [7]), articolazione sterno-clavicolare (*Vogelius* [8]), coxofemorale (*Vogelius* [9]), radio carpica (*Brunner* [10]). Se l'artrite da pneumococco consecutiva a polmonite è un' affezione rara, rarissima poi è l' artrite pneumococcica indipendente dalla polmonite; tanto che non ne conosciamo che pochissimi casi e ancora non tutti egualmente dimostrativi. *Boulloche* [11] ne descrisse un caso molto interessante ed istruttivo.

Si trattava di un ragazzo di 5 anni il quale, quattro giorni prima del suo ingresso nell'Ospedale, fu preso improvvisamente da febbre e fortissimo mal di gola. Il ginocchio destro, i due gomiti, il collo del piede destro erano sede di vivi dolori. La temperatura oscillava attorno ai 40 gradi. L' ascoltazione del torace riuscì negativa. Però 3 giorni dopo l'ingresso nell'Ospedale si notò alla base del torace a destra, ottusità e soffio tubario — i segni insomma di una pneumonite lobare — e il giorno appresso rantoli crepitanti alla base a sinistra. Il giorno seguente l' ammalato morì. Già durante la vita si erano estratti dalla articolazione del ginocchio destro circa 125 gr. di liquido siero purulento tinto di sangue, nel quale si riscontrò all'esame diretto, e si potè coltivare nelle colture lo pneumococco, e soltanto lo pneumococco. All' autopsia se ne trovarono altri 150 gr. circa nell'articolazione del ginocchio tanto a destra che

---

(1) *Un cas d'arthrite purulente consécutive à une pneumonie.* (Archives de Médec. esperim., 1891, p. 68).

(2) Caso citato da Bozzolo e da Macaigne e Chipault ma di cui non potei leggere la descrizione fatta dall' autore.

(3) *Arthrites à pneumocoques.* (Revue de Médecine, 1891, p. 758).

(4) *Infezione pneumonica.* (Trattato italiano di patologia, Vol. I, parte V., pag. 187).

(5) Revue de Médecine, 1891.

(6) l. c.

(7) l. c.

(8) *Les arthropathies dans la pneumonie croupale.* (Archives de Médec. exper. 1896, p. 186).

(9) Ibidem.

(10) Correspondenzbl. f. Schweizer Aerzte, 1892, Bd. XXII, n° 11-12.

(11) *Sur un cas de polyarthrite suppurée et de myosites déterminées par le pneumocoque.* (Arch. de Médec. experim., 1891, p. 253).

a sinistra. Si riscontrò un processo di polmonite allo stadio di epatizzazione rossa alla base del polmone destro; un focolaio di bronco-polmonite alla base del polmone sinistro. Si aveva poi una forma di miosite pure dovuta al diplococco, nei muscoli della coscia.

*Kirmisson* (1), osservò in un bambino una peritonite purulenta la quale era stata preceduta da una artrite purulenta del piede. Nel pus si trovò esclusivamente il diplococco.

Il caso di *Tombolan-Fava* (2) è meno dimostrativo. Infatti il paziente si ammalò prima di endocardite in seguito a reumatismo articolare, poi di polmonite; e all'autopsia si riscontrò nell'endocardite ulcerosa aortica e nel focolaio pneumonico il diplococco, mentre non c'era traccia di affezione articolare.

L'A. ciò non ostante si domanda se per avventura non si possa riferire allo pneumococco stesso anche l'artrite, la quale in tal caso sarebbe stata primitiva.

Nel caso che io ho riferito, se sfortunatamente si trascurò l'esame del liquido estratto colla puntura esplorativa dall'articolazione del ginocchio nei primi giorni dell'affezione, si riscontrò però la presenza del pneumococco sia all'esame diretto, sia colle colture nel pus estratto dall'articolazione sul cadavere. L'artrite, anche se si iniziò con un processo di reumatismo articolare, divenne però in seguito un'artrite purulenta diplococcica.

Ho detto che con ogni probabilità la localizzazione articolare del pneumococco precedette la endocardite, e questa la polmonite. Ammettendo la precedenza di una forma di reumatismo articolare acuto, questo potrebbe aver prodotto delle alterazioni dell'endocardio, sul quale in seguito si sarebbe innestato il diplococco. Resta a determinare la porta di entrata del microrganismo nel sangue.

Se l'insorgenza della polmonite avesse preceduto l'endocardite e le manifestazioni articolari, tutto si potrebbe spie-

(1) *Péritonite à pneumocoques.* (Semaine médicale, 1895).
(2) *Endocardite ulcerosa da diplococco pneumonico.* (Rif. Medica, 1889).

gare facilmente ammettendo come primitivo il processo di polmonite. Col passaggio dei microrganismi nel sangue si avrebbe avuta la localizzazione nel cuore e nelle articolazioni.

Se non che la storia clinica ci ha mostrato che i segni di una lesione valvolare del cuore furono rilevati già il giorno 20 febbraio, quando ancora mancava ogni sintomo di polmonite, quali comparvero nei giorni successivi. Abbiamo notato che il giorno 17 improvvisamente, dopo 5 giorni di apiressia, si aveva avuto un fortissimo rialzo di temperatnra, la quale era salita a 40°,1.

Con tutta probabilità si ebbe allora una invasione di microrganismi nel sangue, e la localizzazione del processo infettivo sull' endocardio. D' altra parte la lesione delle valvole cardiache quale fu riscontrata al tavolo anatomico, datava certamente da parecchi giorni, mentre il processo di polmonite era in pieno sviluppo, epatizzazione rossa al lobo superiore, fra il rosso e il grigio nell' inferiore.

Un altro fatto parlerebbe ancora per la localizzazione primitiva articolare, ed è la minore virulenza dimostrata nelle inoculazioni negli animali, del diplococco isolato (colle stesse cautele e in modo affatto identico) dall' articolazione del ginocchio in confronto di quello isolato dal polmone e dal cuore.

Senza voler dare troppa importanza a questo fatto, tanto più che secondo alcuni autori nelle articolazioni lo pneumococco avrebbe una speciale tendenza ad attenuarsi, ricorderò che anche *Chantemesse* (1) ha notato un fatto analogo in un caso nel quale durante la vita del paziente si potè nettamente stabilire la successione delle diverse localizzazioni dello pneumococco. Egli trovò che mentre lo pneumococco isolato dall' articolazione del gomito, la prima affetta, non uccideva più il topo, quello isolato dall' articolazione del ginocchio, ammalatasi più tardi, lo uccideva lentamente; quello isolato dalle meningi, ultima localizzazione del pneumococco che aveva determinato la morte del paziente, lo uccideva in 48 ore. A spiegare nel caso nostro la porta di entrata del microrganismo,

(1) l. c.

non possiamo fare che delle ipotesi. Pare non si abbia avuta una forma di affezione delle tonsille, le quali come si sa possono essere non di rado la porta di entrata del diplococco; ma non si potrebbe escluderla in modo assoluto. Dobbiamo però ricordare che l'ammalato nostro andava soggetto a tosse, era bronchiettasico, enfisematoso. Si potrebbe ammettere qualche piccolo focolaio di bronco-polmonite passato poi a guarigione, forse una forma di bronchite (sempre di natura diplococcica), forse anche la rottura di qualche piccola cavità bronchiettasica.

Il microrganismo penetrato nel circolo sanguigno, si sarebbe localizzato da prima sulle articolazioni, forse preparatevi da un processo di reumatismo articolare acuto, e in seguito sul cuore destro. Anche pel cuore si può ammettere l'azione predisponente del reumatismo, per quanto si sappia che queste condizioni predisponenti, specialmente per l'endocardite diplococcica non siano affatto necessarie, potendo essa impiantarsi d'acchito su un endocardio perfettamente normale.

A spiegare la localizzazione nel cuore destro si possono invocare le condizioni speciali nelle quali il cuore destro veniva a trovarsi in causa dell'enfisema, per cui esso, sottoposto ad un eccesso di lavoro, s'era a poco a poco sfiancato, ed era diventato così un « locus minoris resistentiae ».

L'esposizione sopra fatta dei 3 casi di endocardite del cuore destro, mi dà occasione a dire poche parole sugli altri casi di endocardite da diplococco, che nel corso di circa 4 anni si presentarono nelle autopsie eseguite nell'Istituto di Anatomia Patologica.

Circa la frequenza dell'endocardite pneumococcica, è oggi universalmente riconosciuto che il diplococco di *Fraenkel* è fra le cause più comuni di endocardite. Lascio da parte le statistiche le quali hanno dato risultati così diversi ai diversi autori, che da esse è impossibile farsi un criterio anche solo approssimativo sulla frequenza di tale affezione.

I casi da me osservati nei quali al tavolo anatomico si accertò la presenza di un processo di pneumonite sono in tutto 85. La endocardite diplococcica fu riscontrata in 9 casi.

Nei 6 casi che rimangono oltre ai 3 casi già descritti, la endocardite, sempre consecutiva alla polmonite, era limitata al cuore sinistro. Il numero dei casi è troppo esiguo per poterne trarre qualche dato statistico relativamente alla sede delle lesioni. Mi limito perciò a riassumerle in poche parole. In 3 casi la lesione occupava soltanto la valvola mitrale, in 2 soltanto le valvole aortiche, in 1 la mitrale e l'aorta contemporaneamente.

La meningite l'ho riscontrata tre volte nei 9 casi di endocardite presi in esame. A questo proposito dirò che mentre in un periodo di circa due anni, all'autopsia di circa 40 casi di individui morti in seguito ad un processo pneumonico, si osservarono 3 casi di endocardite pneumococcica, e in nessuno di questi si osservò meningite, mentre in un altro periodo di circa 2 anni su 30 casi circa di polmonite, si ebbero altri 2 casi di endocardite, anche qui senza meningite, nel breve periodo di 1 mese circa, su 17 autopsie di polmoniti, mi capitò di osservarne 4 casi; e in 3 di questi casi si ebbe anche un processo esteso di meningite, essa pure dovuta al diplococco di *Fraenkel*, come dimostrarono l'esame diretto del pus e le colture.

Questo può far pensare naturalmente ad una maggiore virulenza dell'agente infettivo. La polmonite infatti che in quel periodo di tempo (marzo-aprile 1900) s'era manifestata come in forma epidemica in alcuni comuni dei dintorni di Pavia, aveva carattere grave. Non si ebbero in quell'epoca all'autopsia casi di meningite senza polmonite.

Una questione importante è quella delle embolie nella endocardite diplococcica. L'importanza sta in questo che, data la difficoltà e in alcuni casi la quasi assoluta impossibilità di stabilire all'esame fisico del cuore l'insorgenza dell'endocardite diplococcica, la comparsa di sintomi riferibili ad embolie, può portare molta luce in proposito e da sola condurre alla diagnosi.

Le opinioni sono in proposito assai diverse. Alcuni autori (*Netter*, *Bozzolo*) sostengono che nell'endocardite diplococcica le embolie sono piuttosto rare, (si intende di parlare naturalmente

delle embolie recenti, e non di antichi infarti imputabili a lesioni cardiache antiche). *Netter* attribuisce questo fatto alla natura speciale delle vegetazioni, quali si riscontrano in questa forma di endocardite. Esse hanno infatti superficie liscia, relativamente regolare: la loro forma generale è globosa. Se delle sporgenze secondarie si innalzano sulla loro superficie, esse sono abbastanza liscie e regolari: le grosse vegetazioni sono sempre sessili.

Altri autori invece (*Weichselbaum*, *Banti*) sostengono la frequenza degli emboli nella endocardite diplococcica.

Nei 9 casi che io ho esaminato, ho trovato in 2 casi infarti embolici nel polmone; in 2 casi infarti nel rene e nella milza.

In uno dei casi nei quali si aveva un infarto recente nel polmone, si avevano pure infarti, ma antichi, nella milza e nel rene.

L'endocardite diplococcica può presentarsi come si sa sotto due forme, la vegetante o verrucosa e la ulcerosa. Anche a proposito della maggior frequenza dell'una o dell'altra forma v'ha disaccordo fra gli autori. Secondo alcuni (*Weichselbaum* (1)) sarebbe più frequente la forma ulcerosa. Secondo altri (*Banti* (2)) la verrucosa.

Spesso poi accade di trovare le 2 forme associate, magari sulla stessa valvola, come nel primo caso da me riferito.

Io ho trovato le due forme associate in un altro caso. La forma puramente vegetante l'ho riscontrata in 5 casi, la ulcerosa in 2. La distinzione delle due forme d'altronde ha ormai perduto ogni valore. In numerose preparazioni microscopiche fatte allo scopo di studiare minutamente le alterazioni prodotte nell' endocardio in entrambe le forme, ho potuto confermare pienamente i risulati del *Banti*, il quale conclude per l' identicità del processo in tutte e due le forme.

Le vegetazioni sono costituite da una sostanza granulosa, omogenea, senza nuclei, attraversata da più o meno grossi

(1) *Ueber Endocarditis pneumonica.* (Wiener Klin. Woch., 1888, n° 35).
(2) *Endocarditi e Nefriti*, Firenze, 1895. — *L'Endocardite diplococcica.* (La settimana medica dello Sperimentale, 1897, pag. 77).

filamenti di fibrina (colorabili col metodo di *Weigert*), la quale riempie pure le fenditure, le crepature della massa granulosa.

In mezzo a questa massa grunulosa stanno più o meno numerosi, talora in ammassi considerevoli, i diplococchi. Come è facile di vedere su preparati nei quali la vegetazione è sezionata verticalmente, i diplococchi si trovano in tutto lo spessore della vegetazione, tanto alla periferia che al centro, e non sono limitati come vorrebbero alcuni allo strato di fibrina superficiale e alle anfrattuosità, pure riempite di fibrina, formate dalla superficie più o meno irregolare delle vegetazioni.

Nello spessore della vegetazione si incontrano talora alcune piccole lacune contenenti qualche globulo rosso e qualche globulo bianco. Queste lacune furono scambiate per vasi tagliati di traverso: ma un attento esame dimostra che esse non hanno endotelio sulla loro superficie interna, e per di più sono affatto sprovviste di pareti proprie.

La vegetazione non è altro insomma che un trombo jalino con un po' di fibrina. Essa si continua col tessuto endocardico senza netta delimitazione, per modo che spesso riesce difficile stabilire il confine fra endocardio e trombo.

Nel punto di impianto della vegetazione il tessuto dello endocardio ha un aspetto omogeneo quasi jalino. Esso ha infatti subito la necrosi jalina.

Verso le parti profonde questo strato è circondato da una zona di elementi simili ai leucociti, i quali infiltrano più o meno fittamente il tessuto e vengono a stabilire quasi una delimitazione fra la parte sana e la malata. La necrosi dell'endocardio si approfonda più o meno, e arriva talora fino al miocardio o alla faccia opposta della valvola.

Studiando dei preparati di endocardite ulcerosa, si trova che il tessuto endocardico che limita l'ulcera in corrispondenza della quale l'endocardio è andato distrutto, presenta su una zona più o meno estesa i segni della necrosi jalina. Al di sotto della parte necrotica si trova nell'endocardio una infiltrazione parvicellulare che la circonda completamente, separandola dal tessuto sano. Lo strato necrotico dal lato della

cavità cardiaca è ricoperto da piccoli trombi jalini, costituiti da ammassi granulosi omogenei, con scarsi filamenti di fibrina.

In tutte e due le forme il processo è quindi come dice il *Banti* essenzialmente identico. Abbiamo cioè: 1) Necrosi jalina dell'endocardio, 2) infiltrazione parvicellulare nel tessuto endocardico al di sotto della parte necrotica, 3) produzione di trombi jalini sulla parte necrotizzata.

Un'altra questione ancora dibattuta è quella che si riferisce alla via di penetrazione dei microrganismi nel tessuto valvolare; se essi vi arrivino cioè dall'interno e se vi vengano depositati dall'esterno, dal sangue circolante nel cuore.

*Köster* (1) ammise che essi penetrassero nei vasi sanguigni delle valvole, vi producessero emboli micotici, cui succederebbero le alterazioni flogistiche le quali perciò comincerebbero dal profondo dell'endocardio per venire poi alla superficie.

*Ribbert* (2) pure sostenne la stessa opinione. Ma questa ipotesi cadde davanti al fatto messo in luce da *Langer* (3) e *Darier* (4), che le valvole normali dell'adulto non contengono vasi. Solo nel lembo aortico della mitrale si trovano alcune arteriole provenienti dalla coronaria, ma che restano limitate al quarto superiore del lembo stesso.

Vasi si possono però riscontrare nelle valvole in seguito a processi patologici, specialmente nelle vecchie endocarditi croniche, con ispessimento notevole delle valvole e dei cordoni tendinei.

Così si spiegano i casi nei quali alcuni autori (*Haushalter* (5), *Bruhl* (6) ecc.) hanno descritto nell'endocardite acuta delle embolie capillari cariche di bacteri: a meno che si voglia ammettere si tratti di casi speciali di anomalie della struttura

(1) Virchow's Archiv., Bd. 72.

(2) Forschritte der Medizin., 1886, n° 1.

(3) *Ueber die Blutgefässe in der Herzklappen.* (Arch. f. pathol. Anat. und Phys., Bd. CIX, Sept. 1887).

(4) *Les vaisseaux des valvules du coeur.* (Bull. de la Soc. Anat., Nov. 1887).

(5) *Endocardite à pneumocoques.* (Revue de Médecine, 1888).

(6) *Endocardite tricuspidienne pneumococcique.* (Gazette des Hôpitaux, 1900, p. 606).

valvolare. Io stesso conservo un caso nel quale nel lembo aortico della valvola mitrale perfettamente normale, sottile, trasparente, si vede una finissima rete vascolare che arriva fino quasi al margine libero.

Quasi tutti i patologi hanno però oggi accettato l'opinione di *Klebs*; che i bacteri cioè, circolanti nel sangue, si arrestano alla superficie dell'endocardio, e la loro azione patogena si manifesta dall'esterno all'interno. Questa dottrina ebbe anche la conferma delle ricerche sperimentali.

L'endocardio è una sierosa e come tale è un tessuto reattivo molto sensibile alle infezioni e alle intossicazioni.

Il sangue, carico di tossine e di microbî modifica, sotto forme anatomiche variabili, la nutrizione dell'endocardio col quale esso è in rapporti così estesi, così diretti, così intimi. Fra le sierose, l'endocardio è certamente una delle più sensibili. Forse per la sua configurazione anatomica, e per il suo ufficio fisiologico, offre più frequentemente e più facilmente ai microbi patogeni occasione e mezzi di fissarsi su di esso.

Nei numerosissimi preparati microscopici ch'io ho eseguito, nei vari casi di endocardite, in corrispondenza delle vegetazioni e delle ulcerazioni delle valvole non mi accadde mai di trovare nel tessuto valvolare, vasi contenenti emboli micotici.

I microrganismi si trovano bensì, spesso in ammassi notevoli, nel tessuto valvolare privo di vasi, anche in punti più o meno lontani dalle vegetazioni e dalle ulcerazioni, sicchè a prima vista sembrerebbe difficile di poter dire da dove essi siano arrivati. Ma se si osserva attentamente, si vede che la loro presenza è limitata alle zone di tessuto che hanno subìto o vanno subendo la necrosi jalina, e vengono allora invase dai microbî che vi trovano un terreno adatto al loro sviluppo.

Restano naturalmente esclusi i casi nei quali per la presenza di vasi nel tessuto valvolare si possono in realtà formare degli emboli micotici, con tutte le conseguenze di questi.

Soltanto poche parole devo dire ancora circa la maggiore frequenza relativa della endocardite del cuore destro, in seguito alla infezione diplococcica, in confronto a quello che si

osserva in altre infezioni. Su circa 600 autopsie, non ho avuto ancora occasione di vedere un caso di endocardite del cuore destro di altra natura.

*Netter* la attribuisce al disturbo della circolazione polmonare, inseparabile da una polmonite un po' grave, e quindi al soggiorno più prolungato del sangue nel cuore destro, allo sfregamento sugli orifizi ecc.

Questo può valere in alcuni casi, ad esempio pei primi due casi da me riportati; ma non serve a spiegare l' insorgenza dell'endocardite in altri casi, quando cioè l'endocardite come nel 3° caso da me riferito, insorge primitivamente, o contemporaneamente al processo pneumonico.

Per le varie forme di endocardite infettiva e specialmente per quella più comune dovuta ai piogeni (stafilococchi e streptococchi) si ammette che esista generalmente una lesione valvolare anteriore, lesione che per le condizioni speciali di attività del cuore nell'adulto è più frequente nel cuore sinistro.

Nella endocardite da pneumococco questa alterazione precedente del cuore, sarebbe meno necessaria, come abbiamo già notato, e *Netter*, ad es., non l' avrebbe riscontrata nella metà circa dei casi. Egli dice: Lo stato speciale del sangue, la sua ricchezza in fibrina, la tendenza di questa a coagulare nel cuore anche durante la vita, spiegano forse questa endocardite vegetante pneumococcica senza lesioni valvolari pregresse, e la forma globosa delle giovani vegetazioni, corrisponde senza dubbio a questa origine trombotica.

Nei 3 casi di endocardite del cuore destro da me riferiti, una lesione preesistente del cuore destro, probabilmente esisteva.

Pel 3° caso l'abbiamo già notato.

Nel 1° caso si trattava di un individuo di 74 anni, nel quale esistevano aderenze pleuriche antiche da ambo i lati, retrazioni e placche di consistenza cartilaginea ad entrambi gli apici polmonari esiti di pregressi processi morbosi pleurici e polmonari; l'individuo era enfisematoso e da molto tempo tossicoloso.

Nel 2° caso si trattava pure di un individuo di 74 anni,

con enfisema polmonare avanzato, e inoltre una notevole deformità del torace che aveva note rachitiche e presentava una lordo-scoliosi.

L' individuo andava soggetto a bronchiti, ed era predisposto a tutti questi accidenti anche per la deformazione toracica conseguenza della scoliosi.

In tutti questi casi si deve perciò ammettere un disturbo della circolazione di ritorno, e un certo grado di dilatazione del cuore destro (constatata al tavolo anatomico). Questo è diventato perciò un locus minoris resistentiae e su di esso doveva localizzarsi di preferenza l' endocardite pneumococcica.

Istituto di Clinica Chirurgica Generale di Firenze.

# CONTRIBUTO ALLE LESIONI PRODOTTE DAL FUNGO RAGGIATO.

(Con 4 Tavole).

PROF. FRANCESCO COLZI.

L'actinomicosi, riconosciuta e studiata principalmente nella seconda metà dello scorso secolo, è stata argomento di varie pubblicazioni sia intente a rilevare le qualità biologiche e morfologiche dell'agente infettante, sia per descrivere le lesioni anatomo-patologiche da esso prodotte, sia infine per completarne il quadro clinico.

Da *Langenbeck* che primo, sembra, vedesse nel 1845 il fungo raggiato nell'uomo, a *Perroncito*, *Rivolta*, *Hahn*, *Bollinger*, *Hay*, *Israel*, *Ponfick*, *Bostroem*, *Wolf-Israel*, *Poncet* insieme alla scuola Lionese, a *Maiocchi*, *Gasperini*, *Rossi-Doria*, *Burci*, *Tusini*, ecc. (1), le pubblicazioni sulla actinomicosi si sono oltremodo moltiplicate, senza che però questo argomento, non ostante gli studii di tanti autori così competenti, possa dirsi esaurito.

La biologia del micromicete lascia ancora dei quesiti insoluti; il quadro clinico stesso non può dirsene bene delineato.

La malattia non sempre si presenta con lo stesso aspetto benchè l'agente infettante sia il medesimo e talora in forme cliniche identiche di actinomicosi può trovarsi un reperto batteriologico differente.

(1) Per la bibliografia vedi Poncet, *Traité Clinique de l'Actinomycose Humaine*, 1898.

Da ciò ne è risultata la necessità di stabilire varie forme di actinomicosi e già si parla di una forma iperplastica, di una forma suppurativa dell'actinomicosi, di una forma tipica, di una atipica e di una pseudo actinomicosi.

Distinzioni queste fondate sulla clinica, sulla anatomia patologica e sulla batteriologia, sebbene le forme microbiche studiate vadano ogni giorno moltiplicandosi senza che per anco siasi giunti ad assegnare i giusti rapporti fra le varie modalità cliniche e quelle micotiche.

La forma iperplastica od a tumore della actinomicosi, assai comune negli animali (bove), è rara nell'uomo, ed ai cinque casi raccolti nella tesi del *Thollon* nel 1896, se ne potrebbero aggiungere ben pochi, molto discutibili e troppo alla leggiera dichiarati tali, anche tenendo conto della forma clinica grossòlana, come di quella anatomica macroscopica.

L'actinomicosi nell'uomo, pure avendo delle sedi di predilezione, si può dire che non risparmia regioni nè organi. È sorprendente però come le glandole linfatiche siano quasi sempre immuni da questa malattia.

Il *Bostroem* (1), a pagina 167 del suo classico lavoro sulla actinomicosi, dichiara che egli *conviene con gli autori*, che il fungo raggiato non dà mai metastasi nelle glandole linfatiche. Il *Poncet*, nel suo libro, dice che « le linfangiti ed adeniti micotiche si contano ancora oggi (1898), (in Francia un caso di *Macaegne* in una actinomicosi del polmone) », e ritiene « che l'assenza di ingrossamenti delle glandole linfatiche nella vicinanza di una lesione infiammatoria cronica, sia un buon segno per ammettere la natura micotica di quella lesione ».

Il *Koelsch* (2) nella sua tesi sull'actinomicosi, dichiara che le infezioni delle glandole linfatiche sono rarissime, e per queste forme si tratterebbe, ben si intende, di infezioni secondarie.

Il *Tusini* (3), in una forma di poliadenopatia morvosa a de-

(1) Bostroem, *Untersuchungen über die Aktinomykose des Menschen.* (Ziegler's Beiträge zur pathologischen Anatomie, 1890).

(2) Koelsch, *Klinische Beiträge zur Lehre von der Aktinomykose des Menschen.* (Inaugural Dissertation (Druck der Universitäts-Buchdruckerei von E. Th. Jacob) Erlangen, 1900).

(3) Tusini, *Di una poliadenopatia cronica morvosa.* (Pisa, 1900, Mariotti ed.).

corso cronico, trovò una varietà di actinomices al quale non ha potuto attribuire sicuramente alcuna azione patogena.

Il *Berestneff* (1), nella sua memoria sulla pseudo actinomicosi accenna a cinque casi di actinomicosi di glandole linfatiche, senza che io sia potuto riuscire, cercando accuratamente nelle sue varie pubblicazioni, a trovarne la descrizione, ed egli stesso, nella fugace allusione che ne fa, non lascia trasparire nemmeno se si trattasse di actinomicosi umana, e se di forme primitive o secondarie.

Per conto mio, con attente ricerche, non ho riscontrato nè in monografie sull'argomento, nè nei trattati classici di patologia, alcuna forma di lesione glandolare linfatica, primitiva, a forma neoplastica, dovuta al fungo raggiato nell'uomo.

La eccessiva rarità quindi della forma clinica, della sede e delle lesioni anatomo-patologiche, mi hanno deciso a riferire su di una mia osservazione che se presenta una qualche lacuna non è scevra di interesse dal lato clinico ed anatomico.

Moriani Angelo di anni 35 di Montespertoli (Firenze), possidente.

Nel gentilizio nulla di notevole. Egli non ha mai avuto malattie che meritino una speciale menzione, e si può escludere qualunque infezione venerea e sifilitica. Essendo molto grasso, nell'estate è andato frequentemente soggetto ad eczema intertrigo allo scroto ed alla faccia superiore interna della coscia. (Solco femoro-scrotale).

Venti mesi innanzi del mio primo esame il paziente aveva trovata per caso, nell'inguine sinistro, una tumefazioncella grossa poco meno che una nocciuola, mobile, indolente.

Si era circa al mese di ottobre e, per quanto ripetutamente si interrogasse il malato, questi non ricordava di avere avuto, in quell'epoca o prima, fatti flogistici all'arto inferiore corrispondente, ai genitali od all'ano, tranne quella forma eczematica suddescritta, più marcata nella piega femoro scrotale sinistra, dipendente dall'abitudine che il malato aveva di tenere lo scroto da questo lato dell'inforcàtura dei pantaloni.

Assicurava il malato che, in codesto anno, l'eruzione non aveva presentato intensità maggiore degli altri e che, come al solito, si produceva in seguito a delle lunghe camminate, fatte in ore molto calde, per guarire del tutto, o almeno diminuire notevolmente col riposo.

Dopo l'esame del tumore, ben si intende, il malato sottoposto a nuove e convenienti interrogazioni, ha risposto che: essendo possidente

(1) Berestneff, *Ueber Pseudoaktinomykose*. (Zeitschrift für Hygiene, 1899).

di piccola proprietà fondiaria, sorveglia direttamente gli affari ed ha l'abitudine di frequentare le stalle e passare in osservazione i propri buoi. Nei tre anni che precedettero la comparsa di quella piccola tumefazione che abbiamo sopra ricordata, il Moriani era stato costretto a fare ammazzare tre buoi, essendo questi affetti da actinomicosi del mascellare. Anzi l'ultimo animale si era ammalato durante il periodo estivo ed era stato esaminato qualche volta in bocca dal Moriani, il quale non aveva poi l'abitudine di lavarsi. Egli racconta che, essendo l'eruzione sul lato interno della coscia molto pruriginosa, spesso si trovava costretto a portar le mani, per grattarsi, in quella regione, ed afferma anzi che, appunto pel fatto che quivi portava spesso la mano, può assicurare che la tumefazione avvertita nell'ottobre non doveva rimontare a molto tempo.

Non vi era nessun'altra manifestazione locale, e la tumefazione non era stata preceduta o accompagnata sull'inizio da fatti dolorosi, da febbre o da fenomeni generali.

I movimenti dell'arto erano liberi, nessun senso di intorpidimento nella coscia, nessun rossore in corrispondenza della tumefazione, ma da quell'epoca il malato rivolse spesso, su di essa, la sua attenzione.

L'intumescenza andava crescendo lentamente e progressivamente, senza dare però il benchè minimo disturbo, senza subire modificazioni involutive e resistendo ai più svariati mezzi medicamentosi locali.

Si arrivò così dall'ottobre 1899 alla fine del maggio del 1901 e fu allora che, avendo la tumefazione acquistato un volume considerevole, ed essendosi impressionato per le dichiarazioni di altro chirurgo, il paziente venne a sottoporsi alla mia osservazione.

Nel Moriani trovai un individuo di costituzione robusta, nel pieno della floridezza e del vigore ed egli dichiarava che, quantunque dotato di un pannicolo adiposo abbondante, poteva esporsi agli strapazzi più eccessivi senza risentirne il minimo danno.

Colorito della pelle bronzino nelle parti scoperte, come di un individuo che resta molto al sole; nel resto pelle bianco rosea, e rosee le mucose visibili.

Nessuna tumefazione delle glandole del collo, nè cicatrici, nè speciali indurimenti od aderenze della pelle da far sospettare ingrossamenti glandolari precedentemente esistiti ed in massima parte dileguati.

Lo stesso dato negativo si ha nelle regioni sopraclavicolari, nella ascella, nelle glandole sopra epitrocleari, all'inguine destro.

Sullo stato dell'inguine sinistro riferirò poi.

Anche l'apparecchio linfatico della faringe e delle tonsille è normale.

Torace ben conformato ed integro l'apparecchio respiratorio. Cuore normale.

Nessun fatto rilevabile che faccia sospettare ingrossamenti delle glandole peribronchiali.

Addome disteso per accumulo di grasso e per distensione del tubo gastro-intestinale che tiene in gran parte alle abitudini di vita del malato, forte mangiatore e bevitore.

Fegato e milza di volume normale.

Esame del sangue completamente negativo.

Apparecchio scheletrico regolare. Nessuna tumefazione delle ossa, nessun punto dello scheletro dolente alla pressione.

Scroto pendente, pigmentato. Nella plica femoro-scrotale una pigmentazione rilevante, specie a sinistra, ove si nota poco secreto di odore acre e delle squamette epidermiche.

Negli arti inferiori, come si è già detto, niente di anormale. Anche dal lato corrispondente alla affezione che ora descriverò, nessuna cicatrice, nè alcuna scalfittura in atto.

Ai genitali, all'orifizio anale e nel retto, nulla assolutamente di notevole.

Venendo alla *regione malata* dirò:

Esaminando il paziente nella stazione eretta, si trova una tumefazione ubicata alla radice della coscia e più specialmente nella regione inguino-crurale sinistra, al disotto dell'arcata femorale, che non modifica la forma, il volume, la posizione e gli altri caratteri ponendo il malato in decubito orizzontale. È in questa posizione quindi che per brevità la descriverò.

La tumefazione ha forma ovoidale regolare, volume maggiore di un uovo di tacchina ed il massimo dei suoi diametri parallelo alla arcata di Poupart.

Essa presenta il suo polo superiore situato un quattro centimetri al di sotto ed all'interno della spina iliaca anteriore superiore, e si estende in basso fino a raggiungere il margine anteriore del retto interno, un 7 centimetri al di sotto della spina del pube.

La tumefazione fa rilievo assai netto sulle parti circostanti. È ricoperta da pelle integra per colorito, per spessore, per grado di calore e per vascolarizzazione venosa.

Il tumore si solleva ritmicamente coi movimenti di pulsazione dell'arteria femorale, ma la pulsazione non gli è propria, sibbene apparente, essendo dovuta ad un impulso trasmessogli dall'arteria.

La pelle si solleva benissimo sul tumore insieme al pannicolo adiposo che è abbondante.

Il tumore è ubicato al di sopra della arteria per un certo tratto; conserva sempre un qualche grado di mobilità anche facendo contrarre i muscoli della faccia anteriore della coscia e quelli pelvi-femorali. Facendovi presa con le due mani non si riesce a sollevare il tumore, mentre qualche movimento di lateralità e dall'alto al basso gli si può imprimere.

Come ho detto, la superficie della tumefazione è omogenea, la sua forma perfettamente ovoidale, e non vi si notano irregolarità tali da ammettere che sia dovuta alla fusione di più masse.

Non si osserva la benchè minima riducibilità. In esso non si avvertono rumori anormali. In corrispondenza dell'anello crurale e nel canale inguinale, si può infossare il dito come in condizioni ordinarie.

La pressione non risveglia in nessun punto dolore. La palpazione la più accurata non fa percepire alcuna tumefazione glandolare allo intorno del tumore nè nella fossa iliaca. Non vi è stato varicoso dell'arto inferiore corrispondente.

Rivisto il malato dopo otto giorni dal mio primo esame, trovai il tumore un poco aumentato di volume, pur mantenendo sempre costanti i fatti negativi da parte della pelle ed essendo assente completamente il dolore.

La diagnosi presentava delle difficoltà non comuni, fatto che d'altronde non è infrequente nelle affezioni delle glandole linfatiche. Infatti la sede, il modo di insorgere, i caratteri presentati dalla tumefazione nei primi momenti in ispecie, e molti caratteri obiettivi, facevano ritenere trattarsi dell'affezione di una glandola linfatica.

Ma di qual natura era questa affezione? Si trattava forse di una forma flogistica cronica, così detta semplice, da irritazioni comuni, come si riscontra non tanto raramente all'inguine in individui che soffrono appunto di eruzioni dell'arto inferiore?

La mancanza di fatti clinici riferibili ad un processo infiammatorio, specie l'assenza, non solo di dolore, ma della benchè minima molestia, la unicità della massa, la mancanza di aderenze fra tumefazione e le parti vicine, il volume, la facevano escludere completamente.

Non c' era da pensare ad una forma sifilitica terziaria, non tanto per l' assenza di qualunque infezione, quanto anche per l' andamento e la mancanza dei caratteri obiettivi proprii di quella lesione. Era forse una forma bacillare?

Questa senza dubbio può presentarsi ed avere un decorso come nel nostro caso, cioè eminentemente cronico, ma tale forma la si riscontra più che altro al collo e nella ascella e spesso poi, arrivata ad un tale volume, presenta dei fatti di rammollimento che non sarebbero affatto sfuggiti data la superficialità ed accessibilità della tumefazione in esame.

All' inguine del resto, come è noto, si riscontrano delle forme bacillari le quali hanno un andamento per lo più subacuto, tendenza alla fusione purulenta ed a colpire molteplici ghiandole.

A questo punto, tenendo conto dei dati anamnestici surricordati, ci si potrebbe obiettare come mai non si fosse pensato ad una forma actinomicotica. La risposta è molto semplice. La storia anamnestica fu completata in quella parte quando l' esame del pezzo patologico era già stato fatto, nè d' altronde era allora, nè è oggi a mia conoscenza alcun caso di actinomicosi primitiva di una glandola linfatica nell'uomo, come, d' altra parte, nel punto da dove, secondo la storia anamnestica, sarebbe partita l' infezione, (plica femoro-scrotale) mancavano le alterazioni od i reliquati d' una actinomicosi cutanea.

Sarebbe stata quindi una affezione actinomicotica primitiva della glandola linfatica e, d' altra parte, anche per questa forma, l'assenza di qualunque fatto flogistico con un volume sì ragguardevole, se pure me ne fosse nato il sospetto, mi avrebbe fatto abbandonare questo concetto diagnostico.

La regione colpita, l' età, la costituzione dell' individuo non mi trattennero troppo sulla diagnosi di linfoma semplice. I caratteri della tumefazione, l' assenza di qualunque localizzazione nelle glandole limitrofe e nelle glandole a distanza, l' esame negativo del sangue, il decorso e tutti gli altri caratteri facevano escludere una forma di leucemia e di linfoma maligno (*Billroth*), pseudo-leucemia (*Cohnheim*), linfosarcoma (*Virchow*), o linfoma aleucemico (*Orth*).

Poteva trattarsi di un sarcoma? Qualunque sia la varietà istologica di un sarcoma delle glandole linfatiche, il decorso clinico è spesso molto più rapido di quello avutosi nel caso nostro.

Per ciò, la netta circoscrizione del tumore dopo venti mesi dalla sua insorgenza, la nessuna modificazione della pelle, la poca irritabilità (mi si passi l'espressione) del tumore, di fronte alle manovre fatte dal malato ed agli esami fatti da medici, la mancanza di rete venosa della pelle stessa, rendevano poco probabile la diagnosi di una forma sarcomatosa originatasi dalle glandole e, ripeterò, datante da venti mesi.

Poteva la neoplasia essersi sviluppata al di fuori di una glandola linfatica? Il modo di iniziarsi del tumore, le caratteristiche che aveva a questo punto dello sviluppo, specie la mancanza di connessioni molto intime da una parte con la pelle ed il tessuto cellulare, e dall'altra coll'aponeurosi e coi vasi di cotesta regione, essendo situato ad essi proprio dinnanzi, facevano pensare che la sede della malattia fosse realmente in un organo interposto tra l'aponeurosi ed il cellulare, e cioè in una glandola linfatica.

Conveniva tornare dunque al concetto di un tumore di una glandola linfatica, e d'un tumore primitivo, poichè negli altri organi e nelle condizioni generali del malato non si trovava ragione di pensare altrimenti.

A quale altro tumore primitivo di una glandola linfatica pensare per conseguenza allo infuori di un sarcoma?

Dovendo venire ad una conclusione pratica per l'infermo, mi sembrò di dovere sospendere qualunque disquisizione diagnostica e, col sospetto di una forma sarcomatosa, ricorrere senza indugio ad una incisione esplorativa riserbandomi di procedere secondo quanto avrei trovato.

Accettato dal malato l'atto operativo, questo fu eseguito nella casa di un parente dell'infermo poco distante dalla città.

L'ammalato venne cloroformizzato e, prese tutte le precauzioni per ottenere un decorso post-operativo asettico, si mise allo scoperto il tumore con una incisione curvilinea foggiata leggermente ad S, iniziatasi poco al disopra ed allo esterno di questo e che scendeva, decorrendo

sulla parte media del medesimo, fino oltre al suo polo inferiore, sul lato antero-interno della coscia.

Il tumore è ubicato al disotto del tessuto cellulare sottocutaneo, ha una capsula fibrosa ben distinta, aderisce lassamente alla lamina superficiale dell'aponeurosi femorale superficiale, è in connessione assai intima con la ripiegatura superiore della vena safena interna per mezzo di alcuni vasi venosi che dal tumore vanno in quel tratto della safena e di aderenze, non molto forti però, stabilite fra alcune piccole glandole linfatiche circostanti, il tumore e le connessioni che queste glandole hanno con la vena.

Una sola glandoletta linfatica della grossezza di un fagiuolo, aderisce validamente al tumore verso il suo polo superiore.

Nessuna connessione si ha con la vena femorale nè con l'arteria. Questi vasi vengono però, nella asportazione, ad essere messi allo scoperto perchè, tenendo conto del sospetto diagnostico di neoplasma che trovava conferma nello aspetto della tumefazione, fu fatta una accurata estirpazione delle glandole della fossa inguinale, asportando anche quel tratto di vena safena che era in connessione col tumore per mezzo di quei brevi tratti di vene che potevano dal tumore stesso essere invase, tenendo conto anche della via più comune di trasmissione di quel genere di neoplasmi.

Avanti di chiudere la ferita feci una incisione sul tumore per vederne l'aspetto e provai, come più innanzi dirò, tale impressione, da giustificare un'estesa asportazione delle glandule.

Suturata la ferita, ponemmo in essa un drenaggio di vetro, atteso lo scollamento esteso e la quantità di adipe della regione, non ostante che molte zolle adipose fossero state asportate col tumore e le glandole linfatiche vicine.

Medicatura asettica, sterilizzata a secco.

Il decorso fu ottimo, apirettico. Guarigione per primam.

In sesta giornata si rimuovono i punti ed il tubo. La cicatrizzazione della piccola apertura del tubo avviene rapidamente, sotto crosta asettica.

Riveduto in questi ultimi giorni il malato, non vi è traccia di riproduzione del processo.

Cicatrice lineare di 14 centimetri. Condizioni generali ottime. Stato dell'arto inferiore corrispondente all'operazione, ottimo; non vi ha edema, nè impaccio alla circolazione venosa.

Venendo ora a parlare dell'aspetto macroscopico del tumore dirò che esso, asportato, manteneva la sua forma perfettamente ovoidale, aveva un inviluppo fibroso bene distinto sul quale si distribuivano più qua e più là dei vasi varicosi a di-

rezione tortuosa. Questo involucro o capsula della neoformazione era di colorito scuro, in alcuni punti rassomigliante il colore di seppia, in altri più tendente al rosso cupo. (Vedi tavola VI).

Il tumore aveva consistenza carnosa uniforme; inciso in varie direzioni si lasciava tagliare dal coltello senza che si percepisse nessuno stridore speciale.

Il colorito internamente era pure scuro, pressochè uniforme, avvicinantesi in alcuni punti più, in altri meno, a quel colore di seppia che molte volte, in casi di sarcomi melanotici che disgraziatamente ci sono capitati da asportare, abbiamo riscontrato.

La consistenza del tumore dopo sezionato era un po' più molle che prima, ma non vi era però eccessiva friabilità, ed il tessuto si sosteneva discretamente bene alla superficie di taglio, permettendo di farne con un coltello delle sottili fettuccie senza che queste si spappolassero.

Raschiando la superficie di sezione, si aveva del succo in discreta quantità, del medesimo colorito del tessuto, ed alla superficie di taglio si notavano designarsi, sul fondo bruno uniforme, delle linee biancastre, sottilissime, a direzione svariata, costituenti la trama del tumore.

Per quante sezioni si facessero, mai si notò differente aspetto da quello descritto, nè, premendo sul tumore, si distaccarono granuli o globetti speciali da richiamare la nostra attenzione.

Le glandole linfatiche asportate, ad eccezione di una che si mostrava appena più grossa del normale, non presentavano alterazioni, ed in questa che aderiva intimamente alla capsula del tumore, dirò subito, per non ritornarvi più sopra, che l' esame istologico fece rilevare ispessimenti fibrosi della capsula, delle trabecole e del reticolo, con diminuzione corrispondente di volume dei cordoni e dei follicoli linfatici.

Del tumore vennero fissati moltissimi frammenti di svariata grossezza e presi da ogni parte, in alcool, in sublimato e nel liquido di *Flemming*.

I pezzi fissati nell'alcool si raggrinzarono moltissimo ed il colorito

del tumore perse della sua intensità e tonalità. La struttura fibrosa si fece più appariscente formando delle maglie con un contenuto di colorito rosso cupo.

Furono praticate inclusioni tanto in paraffina che in celloidina e, delle sezioni, furono fatte colorazioni molteplici.

Così, le sezioni dei pezzi fissati in alcool od in sublimato, vennero colorate con carminio alluminoso e boracico, picrocarminio, carminio ed orange, carminio ed acido picrico. Si fecero colorazioni semplici in Hämalaûn ed in ematossilina *Bizzozero*; colorazioni doppie con queste sostanze ed eosina, oppure con orange.

Si praticarono la colorazione di *Hansen* e quella di *Wan Gieson*, speciali entrambi per il tessuto connettivo e colorazioni con l'orceina.

Questa fu usata tanto secondo il metodo di Livini per colorire esclusivamente il tessuto elastico nella neoproduzione che avevamo presa a studiare, quanto servendoci, anzichè delle soluzioni proposte da quell' autore, di una soluzione alcoolica satura, per colorire degli elemonti speciali, come avrò occasione di esporre fra breve.

Vennero pure praticate con speciale intendimento colorazioni secondo il metodo di *Weigert*, di *Gram*, di *Ehrlich* e di *Ziehl* per i bacilli tubercolari.

Le sezioni dei pezzi fissati nel liquido di *Flemming* vennero colorite con safranina *Pfitzner*, con safranina secondo il metodo di *Babes*, colla fucsina e verde di metile secondo il metodo *Galeotti*, e col metodo *Biondi*.

Venne inoltre praticata la reazione microchimica speciale per la ricerca del glicogeno (colorazione di sezioni fissate in alcool assoluto, in una soluzione sciropposa di gomma addizionata con liquido di *Lugol* o in una miscela di *Lugol* e di glicerina) e si eseguirono le ricerche per dimostrare la natura e l'origine del pigmento che si riscontrò nella neoproduzione, e per differenziare le emosiderine dalla melaniná. (Trattamento successivo delle sezioni con soluzione di ferrocianuro di potassio e di acido cloridrico diluito).

Si tentò anche di ottenere preparati per dissociazione, macerando piccoli pezzi del tumore in una soluzione di potassa caustica che veniva rinnovata per varii giorni.

* * *

Gli esami vennero fatti con varii ingrandimenti, a secco e ad immersione. All'esame microscopico il tumore si mostra non egualmente costituito, ma presentà, benchè non molto marcate ad un piccolo ingrandimento, alcune differenze di struttura.

Gli elementi principali costituenti il tumore sono tessuto

connettivo e cellule: queste non mantengono una forma costante.

La massima parte di esse presentano un nucleo grosso, di forma ovoidale, quasi vescicoloso, e sono scarsamente provviste di protoplasma.

Il reticolo cromatico del nucleo è in loro delicatissimo, le sue maglie sono in alcuni casi molto larghe. Vi si vedono anche nucleoli e qualche volta dei vacuoli. La membrana nucleare è evidentissima.

Il protoplasma piuttosto scarso, omogeneo, contenente solo eccezionalmente qualche granulazione, dà alla cellula, insieme col nucleo, nna forma ovoidale un poco appiattita.

In questo tipo di cellule sono rarissime le figure cariocinetiche.

Un altro tipo di cellule è fusiforme, con nucleo foggiato a bastoncino.

Di queste ultime cellule alcune hanno un nucleo assai sviluppato, con reticolo cromatico abbondante, e possedono uno scarso protoplasma; altre presentano un nucleo anche più voluminoso, con reticolo delicatissimo, appena percettibile, ma non hanno che tracce di protoplasma e giacciono in mezzo al tessuto connettivale fibrillare che trovasi quasi ad immediato contatto con la membrana nucleare la quale è assai bene distinta.

Un altro elemento è dato da una grossa cellula che ricorda, per la grandezza e per la forma, una cellula endoteliale perfetta.

In un'altra varietà, le cellule sono piccole, con nucleo rotondeggiante, poco voluminoso, ricco di cromatina e con protoplasma deficientissimo.

Qua e là si notano anche ben evidenti delle cellule plasmatiche e scarsissimi leucociti con nucleo di varia forma.

Di tutti questi varii elementi il più numeroso, quasi da costituire la massa principale del tumore è quello che si descrisse per primo. Delle altre cellule poi, per ordine di frequenza, abbiamo prima quelle affusate, poi le altre a tipo endoteliale e, più scarsamente di tutte, quelle piccole che abbiamo descritte da ultimo.

Gli elementi cellulari della prima varietà si trovano o molto ravvicinati l'uno all'altro, separati da una sostanza intercellulare omogenea, o in una sostanza intercellulare fibrillare che le mantiene separate più o meno l'una dall'altra, essendo però sempre molto più prevalente l'elemento cellulare alla sostanza di sostegno interposta.

Le cellule fusiformi, mi si passi l'espressione, voluminose, si trovano in mezzo ad una sostanza fondamentale fibrillare, più o meno serrata, disposta a fasci che intersecano il tessuto in varie direzioni.

Le cellule del tipo decisamente endoteliale si trovano in quegli scarsi tratti della neoplasia ove la sostanza intercellulare costituisce come una specie di reticolo.

I filamenti di questo possedono infatti delle cellule di rivestimento che ricordano le cellule endoteliali dei seni linfatici, e le maglie del reticolo al quale abbiamo ora accennato, hanno di questi tutta l'apparenza.

In queste maglie si trovano abbondanti le cellule endoteliali con fatti di cariocinesi, e solo scarsamente quelle cellule del quarto tipo descritto e che potrebbero venire considerate come linfociti.

La massa principale del tumore, come abbiamo detto, è costituita da quel tessuto con cellule abbondantissime a nucleo grosso e coi caratteri descritti, e con sostanza intercellulare omogenea.

Questo tessuto è intramezzato e diviso da quei tratti fibrosi, ricchi di cellule fusiformi che pure abbiamo descritti, e, solamente in rari punti, la neoplasia è costituita da quel reticolo che ricorda quello di una glandola linfatica con proliferazione dell'endotelio di rivestimento.

In varii punti, corrispondentemente a questi tratti che hanno l'apparenza di glandola linfatica con incipiente alterazione, si ha un manifesto passaggio dal tipo di cellule endoteliali a quello di cellule del primo tipo, e corrispondentemente a questo fatto si ha la trasformazione da un reticolo che rammenta quello di una glandola linfatica, in una sostanza intercellulare costituita da sottili e numerose fibrille.

Piacemi ricordare qui nuovamente, che la massa principale della neoproduzione è costituita da un tessuto ricchissimo di cellule e che quei tratti fibrosi provvisti di cellule affusate non vi hanno che una parte secondaria e sembrano quasi destinati a connettere ed a sostenere il tessuto sopradescritto.

I vasi sono dovunque abbondanti, tanto che in alcuni punti la neoplasia ha un aspetto telangettasico.

Nella parte ove le cellule sono in maggior quantità essi hanno per lo più la costituzione dei capillari, essendo cioè formati da uno strato di endotelio.

In altri punti i vasi hanno una parete sottile, senza una struttura appariscente, e nei tratti ove si trovano quei fasci fibrosi compatti, la parete vasale è costituita da lamelle sovrapposte senza però che mai si raggiunga la costituzione perfetta di un vaso venoso od arterioso.

Quei vasi costituiti da un solo strato di endotelio, hanno una ampiezza svariata.

Intorno ai vasi la distribuzione cellulare è diversa. O le cellule li circondano tutti uniformemente, mantenendo i caratteri che presentano nel tessuto fondamentale già descritto del tumore, oppure essi si trovano nello spessore delle trame fibrose, come immedesimati con esse, oppure si presentano attorniati da delle cellule a nuclei grossi con reticolo cromatico delicatissimo, un poco incurvate e modellantisi sul contorno del vaso medesimo.

Le fibre elastiche nella neoformazione sono quasi assenti, e solo, ma pur tuttavia deficienti, se ne vedono nelle pareti dei vasi sanguigni un poco meglio costituiti.

Ovunque, e qualunque sia la struttura del tumore, si trovano accumuli abbondanti di un pigmento amorfo, di varia grandezza, nella sua pressochè totalità extra cellulare.

Nel protoplasma delle cellule solo raramente troviamo poche granulazioni, e quando il pigmento vi si trova in una certa quantità si osservano anche fatti di cariolisi.

*Il pigmento dà la reazione microchimica specifica delle emosiderine.*

*È escluso così che il pigmento sia da riferirsi al micromicete che più tardi descriveremo.*

Qua e là, sparsi irregolarmente nei varii punti del tumore, si trovano accumuli abbondanti di globuli rossi assai bene conservati.

Alcuni costituiscono delle masse notevoli. Altri, in minore quantità, disgregano per zone più o meno estese, i varii elementi cellulari e le fibrille.

In nessun punto si osservano fatti di degenerazione; ma ciò che costituisce forse la parte più interessante in questa neoformazione, si è il reperto di certe particolari produzioni che meritano una descrizione speciale.

Con opportune colorazioni di sezioni sottilissime del tessuto (metodo di *Weigert*, di *Gram*, di *Hansen*, e con l'orceina), si è potuta mettere in rilievo la costituzione di queste produzioni che nelle preparazioni col carminio alluminico, con l'emallume, col picrocarminio, apparivano, ad un esame superficiale e ad un piccolo ingrandimento, come masse ialine, ma che da queste si distinguevano per la periferia costituita da filamenti in forma raggiata.

Anche in queste preparazioni però, si era potuto notare, alla periferia di queste zolle, e più che altro nelle sezioni dei pezzi fissati in Flemming, l'esistenza come di sottili filamenti disposti a raggiera.

Con le speciali colorazioni che più sopra ho indicato si sono avuti i resultati seguenti:

Colla doppia colorazione alla maniera di *Weigert*, esaminando con piccolo ingrandimento, in mezzo ad un accumulo di elementi cellulari colorati in rosso, e sulla disposizione dei quali non voglio ora intrattenermi, risaltavano delle masse intensamente tinte in bluastro, di forma svariata, cioè rotonde, ovoidali, elissoidi, a mezza luna o mezza sfera ed altre che rappresentavano un piccolo segmento di una sfera di vario diametro. (Vedi fig. 1-2, Tav. II).

Queste masse hanno una grandezza svariata che va dai sei ai trenta micromillimetri, ed anche qualche volta fino ai cinquanta. Talora esse appariscono separate dagli elementi cel-

lulari per l'intermezzo d'una zona non colorata, di grandezza pressochè costante (μ 2,4 fino a 6 μ).

Alla periferia di queste masse rotondeggianti, ovoidali ed elissoidi si notano dei sottili filamenti, disposti come a raggiera, i quali si prolungano più o meno ad invadere quella zona pellucida ora descritta che le circonda.

In quelle masse bluastre a forma di mezza luna, di mezza sfera ed in quelle che sembrano un piccolo segmento di sfera di vario diametro, i filamenti sporgono, come irraggiandosi, solo dalla parte della convessità.

Tale è la forma più comune come apparisce nei preparati trattati col metodo *Weigert*, ad un piccolo ingrandimento. Ma in altre parti si nota qualche cosa di differente.

Infatti, in mezzo ai filamenti periferici raggiati, se ne vede qualcuno che termina con un piccolo rigonfiamento claviforme di colorito bleu intenso.

Alla periferia di qualcuna di queste masse bluastre si può notare come un alone sottile, colorato debolissimamente in rosso, attraverso del quale sporgono i filamenti bluastri che si perdono in quella zona incolora, pellucida, che li separa dagli ammassi cellulari.

Altrove, la zona pellucida racchiude una massa granulare bluastra, sottile, che a piccolo ingrandimento non si distingue bene.

Ad ingrandimenti maggiori (Reichert oc. 3 ob. 5, 8, ed immers. omog. $^1/_{12}$), si riconosce meglio la costituzione delle masse speciali delle quali ci stiamo occupando.

Esse sono costituite essenzialmente da un insieme di sottili filamenti coloriti in blèu intenso, suddivisi in varie ramificazioni ed intrecciati, specialmente nelle parti più centrali, in maniera tale da formare un intricato convoluto filamentoso, alla periferia del quale però questi filamenti si dirigono in disposizione raggiata, verso la zona pellucida.

Questi filamenti periferici sono talvolta ramificati, tale altra no, e si presentano diritti, oppure ondulati e flessuosi, arrestandosi la maggior parte nei primi tratti della zona incolora (quando essa esiste), mentre altri, in minor numero, la

attraversano tutta, fino ad arrivare a contatto con gli elementi cellulari circostanti.

In qualche tratto dei filamenti si vedono come degli ispessimenti colorati in bleu scuro.

Questo aspetto filamentoso e raggiato rappresenta la forma più comune che io ho osservata nei miei preparati, ma non infrequentemente, in qualcuno di questi ammassi, i filamenti periferici, dopo avere presa la disposizione raggiata, presentano un piccolo rigonfiamento terminale, claviforme, intensamente colorito dalla genziana, come si vede in modo manifesto nella figura 5 (Tav. IV).

Si nota altrove uno speciale aggruppamento, a coroncina di rosario, di corti filamenti bluastri intramezzati da brevi tratti incolori. Hanno essi tratti bluastri, talora il volume e l'aspetto di un piccolo cocco, e dallo insieme ne risulta l'aspetto di un accumulo di bacilli e di cocchi. Anche questi speciali filamenti a rosario, come quegli ammassi che ho innanzi descritti, sono, il più di sovente, circondati da una zona chiara, incolora, del medesimo aspetto di quella zona pellucida della quale ho già parlato.

Solamente in pochi punti ho riscontrato, in mezzo agli elementi cellulari e ad immediato contatto con questi, dei filamenti colorati in bleu, più o meno sottili, con ramificazioni reali e dei rigonfiamenti lungo il loro decorso.

Talvolta questi filamenti mostravansi interrotti da spazii chiari, alternati a tratti intensamente colorati, ma dove esisteva lo spazio chiaro, questo era sempre limitato da una membranella tinta in bleu che si continuava col resto del filamento. (Vedi fig. 7, Tav. V).

A medio ed a forte ingrandimento, (sempre s'intende nei preparati fatti collo stesso sistema di colorazione) non sono apparsi elementi clavati, coloriti in rosso.

Quel colorito roseo notato a piccolo ingrandimento allo intorno di qualche globetto, e che dissi veniva attraversato dai filamenti bluastri, non ha per nulla l'aspetto del *mantello clavato* descritto da *Bostroem*.

Quella colorazione non è affatto costante ed ha più la

apparenza d'essere dipendente da un incompleto lavaggio delle sezioni microscopiche, che da una speciale sostanza capace di mantenere quella colorazione. Ma su questo punto non potrei pronunziarmi in modo certissimo.

Non ho mai potuto notare, neppure con i più forti ingrandimenti, l'inclusione di filamenti dentro le cellule.

Ho veduto filamenti che si spingevano fino presso ai vasi, senza che però in questi io abbia mai constatata la presenza dei filamenti stessi; eppure, talvolta, i globetti filamentosi eran solo separati dal lume dei vasi per mezzo d'una sottilissima listarella connettivale tappezzata d'endotelio.

Un identico reperto io ebbi nelle sezioni colorite col metodo di *Gram*, per quanto si riferisce specialmente alle masse ed ai filamenti finora descritti; e presso a poco uguali risultati ebbi dalle sezioni colorite col metodo di *Hansen*. (Vedi fig. 3, Tav. III).

In questi preparati gli ammassi filamentosi assumevano una intensa colorazione rossa e, tanto a piccolo che a forte ingrandimento, i filamenti presentavano lo stesso aspetto, quanto a disposizione, divisione ed intreccio.

Con questo metodo di *Hansen*, la zona pellucida che restava pressochè assolutamente chiara nelle altre colorazioni, assumeva una debolissima tinta rosea ed appariva come non omogenea, di aspetto quasi fibrillare e distinta dallo stroma connettivale del tumore per minore intensità di colorazione.

La figura 3 (Tav. III), riproduce esattamente l'aspetto e la varia intensità del colorito degli elementi d'uno di questi preparati.

La colorazione con l'orceina valse a mettere anch'essa assai bene in rilievo ed, in un modo particolare, i dettagli di struttura di queste solite formazioni.

Era evidentissima infatti in questi preparati la disposizione del gomitolo costituito da filamenti ramificati, con rigonfiamenti protoplasmatici lungo il loro decorso, intrecciantisi in vario senso, costituendo un intreccio a maglie più o meno larghe, con filamenti periferici raggiati, alcune volte provvisti di rigonfiamenti terminali claviformi, ma il più

spesso filiformi, ondulati, flessuosi, in modo da dare come la apparenza di un ciuffo di capelli. (Vedi fig. 6, Tav. IV).

Con questo metodo di colorazione, si vede, anche più chiaramente che con gli altri, come alcuni di questi filamenti oltrepassino la zona pellucida (rimasta anche in questi preparati non colorita) e si spingano fino in mezzo agli elementi cellulari.

Con la colorazione di *Ehrlich* e di *Ziehl* e' successiva decolorazione negli acidi, le masse filamentose non si tingevano e non resistevano, in altri termini, agli acidi.

Quale è adesso l'interpretazione che noi dobbiamo dare alle figure descritte, o, in altri termini, da che cosa risultano costituite?

Quelle forme filamentose con le reazioni speciali di colorazione descritte, la divisione dicotomica reale osservata in quei filamenti, i vacuoli e gli addensamenti protoplasmatici loro, mi fanno ritenere con certezza doversi trattare nel mio caso di una forma di *Streptothrix*.

La disposizione a cespuglio dei filamenti e le varie forme dei cespugli, la disposizione a raggiera dei filamenti periferici, la zona incolora, pellucida, caratteristica, che in molti li circonda, le forme clavate (colorabili con la genziana) quegli accumuli bastonciniformi, o a cocci, o misti (bacillo cocciformi) circondati anch' essi da un alone pellucido, le reazioni specifiche di colorazione, mi autorizzano a qualificare quelle figure come appartenenti al *Fungo raggiato*, al genere *Actinomyces*.

Contro questa mia asserzione potrebbe da taluno obiettarsi che, per rendere completo il quadro microscopico della actinomicosi, mancherebbero le forme clavate tipiche, con le loro reazioni speciali alle diverse sostanze coloranti.

Ma è bene qui di far rilevare con *Bostroem*, come nell'actinomices si ritrovino due speciali qualità di clave, le une piccole, colorabili intensamente con il metodo del *Gram*, le altre grosse, colorabili con l'eosina, il picro-carminio, l'acido picrico.

Le prime furono scarsamente riscontrate nei miei preparati; quelle della seconda varietà, mai.

Questa varietà appunto figura descritta da molti ed è da taluni considerata come caratteristica dell'actinomicosi. Conviene quindi prendere in considerazione la mancanza di esse e vedere se per questo fatto si debba o no rimanere dubbiosi sulla diagnosi di actinomicosi.

Già *Israel* nella sua prima pubblicazione sulla actinomicosi (1885, Breslauer ärztliche Zeitschrift s. 30) ha sostenuto che possono mancare le clave. *Ponfick* e *Bang* non le trovarono nei cespugli giovani, e molti altri osservatori (*Bargum*, *Heller*, *Roser*, *Matschinsky*, *Braun*, *V. Noorden*, *Petrow*, *Kubacki*, *Rotter*, *Hanau*, *Afanassiew*, *Muller*, *Kijewski* e *von Jterson*) hanno constatato che le clave nei cespugli actinomicotici possono mancare del tutto od essere molto rare.

Lo stesso *Bostroem*, dal quale ho raccolto queste notizie, si esprime nel modo seguente a pagina 149 del suo pregevole lavoro sull'actinomicosi: « Io ho anche veduto cespugli i quali possedevano un intreccio radiculare irradiantesi in larghezza ed in lunghezza, un grosso centro con pochi filamenti, uno strato germinativo abbondante, e da questo si partivano a forma raggiata, abbondantissimi filamenti nei quali non esisteva alcuna traccia di quelle clave splendenti ».

E più avanti, dopo avere riportate le osservazioni dei vari autori sulla assenza delle clave nei cespugli actinomicotici e delle quali sopra ho riferito, il *Bostroem* scrive: « Queste osservazioni sono esatte, le clave possono mancare abbastanza spesso e questa è una ulteriore dimostrazione contro la dignità fisiologica che loro si era attribuita ».

Le asserzioni surriferite varrebbero già molto per rendere di minimo valore l'obbiezione che mi si poteva fare sulla assenza delle speciali forme clavate, ma gli studi del *Gasperini* [1] e quelli a conferma, del *Burci*, tolgono ogni dubbio e confermano pienamente la mia diagnosi.

Il *Gasperini* dopo una serie di ricerche lunghe, pazienti,

---

[1] GASPERINI, *Ricerche morfologiche sul genere Actinomyces-Harz.* (Annali d'Igiene R. Università di Roma, 1892). — *Ulteriori ricerche sul genere Actinomyces-Harz*, 1894. — *Sul potere patogeno dell'Actinomyces Albus ecc.*, Pisa, 1895. — *Nuove ricerche sull'attinomicosi sperimentale*, 1896. — *Contributo allo studio dell'attinomicosi umana.* Roma, 1898.

minuziose ed inattaccabili, dopo numerosissimi e scrupolosi esperimenti su animali svariati e perfino sul bove, ha gettato una luce vivissima sull'argomento della actinomicosi.

Sarebbe fuor di luogo far rilevare i tratti veramente originali ed utili di quei suoi pregevoli lavori.

A me basta ricordare che egli in alcuni casi di actinomicosi, in animali svariati, ha trovato cespugli con filamenti senza clave.

Le culture fatte con questi prodotti patologici davano colonie di actinomices.

Facendo inoculazioni sugli animali con i prodotti patologici dei casi di actinomicosi con cespugli a filamenti non clavati o con le culture da quelli ottenute, si avevano talvolta nuovi prodotti patologici contenenti cespugli con filamenti clavati. E viceversa in altri casi, l'inoculazione di prodotti patologici con cespugli clavati o delle culture avute da essi, dava origine negli animali a produzioni actinomicotiche con forme filamentose, a cespuglio, senza traccia di clave.

Questi studii toglierebbero indubbiamente alle forme clavate la condizione *sine qua non*, la loro importanza assoluta nella diagnosi di actinomicosi, e la mia affermazione non viene quindi, per l'assenza delle clave, ad essere minimamente attaccata.

Un'altra obbiezione che si potrebbe fare alla mia diagnosi, sarebbe quella che le forme clavate si riscontrerebbero nelle actinomicosi a decorso lento, nelle forme che negli animali assumono il tipo sarcomatoso, come si verificava appunto nella mia osservazione.

Se si tiene conto che le forme d'actinomicosi a tipo sarcomatoso, a decorso lento, si riscontrano nella mandibola del bove, le forme clavate potrebbero con tutta verosimiglianza tenere a speciali condizioni locali di nutrizione difettosa (sede ossea). Infatti dai più si considerano le forme clavate con aspetto speciale e con particolarità speciali di colorazione, come prodotti di involuzione o di degenerazione del micromicete, in seguito a mancata o deficiente nutrizione.

Ma nel caso mio, l'essersi sviluppato il micromicete in una

glandola linfatica, ed il trovarsi il prodotto patologico in uno stato di considerevole vascolarizzazione, possono renderci ragione del come, per questi fatti, abbia potuto mantenersi l'aspetto filamentoso del micromicete, pure essendo il decorso cronico ed a tipo squisitamente neoplastico. Ma questa è una pura ipotesi.

Queste mie osservazioni trovano sicura conferma negli esperimenti del *Gasperini*, il quale ottenne le diverse forme, filamentose o clavate, a seconda non solamente della forma del prodotto patologico, ma anche della sede e del grado di vascolarizzazione dell'organo che ne veniva affetto.

Sarebbero state di necessaria conferma alla mia diagnosi e la prova culturale e l'inoculazione negli animali.

Disgraziatamente tali ricerche non furono fatte, sia perchè non ci aspettavamo il reperto quale dovemmo riscontrare, sia perchè, avendo fatta l'operazione in campagna, non disponevamo subito dei mezzi adattati per le culture e, d'altra parte anche pel fatto che, dopo una serie assai numerosa di culture tentate da tumori, sempre con esito negativo, si era rimasti poco incoraggiati ad insistere in tali ricerche.

Oggi, e giustamente, si dà un grande valore alla prova culturale nei casi di actinomicosi, dopo che accurati studii su questo argomento fecero persuasi molti di non poter pronunziare la diagnosi di actinomicosi senza la conferma delle culture.

Il *Berestneff* (1), appunto in seguito a ricerche culturali, è giunto ad ammettere varie forme di actinomicosi, e cioè una forma di actinomicosi tipica, una di actinomicosi atipica ed una terza forma di pseudo actinomicosi.

Per actinomicosi tipica egli intende quella nella quale insieme ai caratteri clinici della actinomicosi, insieme alla presenza di granuli caratteristici nel pus e dei cespugli nei tessuti, la prova culturale ha dato l'actinomices.

L'actinomicosi atipica sarebbe, secondo lui, quella nella quale, senza la presenza di granuli caratteristici, e di cespugli, si può, dai prodotti morbosi, coltivare l'actinomices.

(1) Berestneff, *Sull'actinomicosi ed i suoi agenti.* In russo. (Tesi, 1897, Mosca).

Per pseudo-actinomicosi infine egli intende quella malattia nella quale, con tutti i sintomi della actinomicosi tipica, con formazione di granuli nel pus, e con la presenza di forme raggiate, dalla prova culturale si hanno microorganismi differenti dalle forme comunemente descritte di actinomices.

Secondo l'A. adunque, la diagnosi si fonderebbe principalmente sulla prova culturale, e ciò toglierebbe molto valore alle nostre asserzioni. È vero però che delle forme di pseudo actinomicosi il *Berestneff* ne fa due gruppi; un primo nel quale si riscontrano microorganismi non colorabili col Gram, ed un secondo nel quale se ne trovano altri che invece al metodo di Gram resistono. Per i resultati della colorazione frattanto, nel caso nostro, non si tratterebbe che del secondo gruppo di pseudo actinomicosi, di quello cioè nel quale si hanno microorganismi che si colorano col metodo di Gram. Ora di questo gruppo, sia per il decorso clinico, sia per i resultati culturali, in confronto alla incertezza ed alla varietà delle forme actinomicotiche coltivate fin qui, non troviamo dati da dovere ritenere tali forme come costituenti un gruppo ben separato dalla actinomicosi.

Altri, tra cui *Sternberg* (1), *Schürmayer* (2), ecc., hanno trovato in casi di actinomicosi diagnosticata come tale, sia per l'andamento clinico che per la presenza dei granuli, microorganismi svariati, tanto che si ammetterebbe che l'actinomicosi umana potesse dipendere da varietà di funghi differenti per le qualità biologiche e culturali.

In uno degli ultimi lavori sulla actinomicosi il *Silberschmidt* (3) sarebbe arrivato a queste conclusioni, cioè che « l'antica opinione che l'actinomicosi rappresenti una malattia specifica prodotta da un unico fungo raggiato non è giusta.

« Una serie di varii microorganismi sarebbero nella condi-
« zione di determinare il quadro tipico della malattia.

« L'esame microscopico diretto dei granuli e delle sezioni

(1) Sternberg, *Zur Kenntniss des Aktinomycespilzes.* (Wiener K. Wochenschrift, 1900).

(2) Schürmayer, *Ueber Aktinomyces.* (Centralblatt für Bakteriologie, 1900).

(3) Silberschmidt, *Ueber Aktinomycose.* (Zeitschrift für Hygiene, 1901).

« dei tessuti permette la dimostrazione di microorganismi, ma « non è sufficiente per la diagnosi di questi.

« Per riconoscere gli agenti determinanti la malattia è in- « dispensabile la ricerca delle culture.

« La produzione di culture pure non è così difficile come è « stato detto, bastando, nella massima parte dei casi esaminati, « alcune culture in brodo ed in agar aerobie ed anaerobie.

« Le infezioni miste non sono la regola nell' actinomicosi « dell' uomo. Secondo le nostre conoscenze odierne non è possi- « bile una diagnosi differenziale fondata su esami batteriologici « fra actinomicosi e pseudo-actinomicosi.

« La massima parte dei microorganismi trovati nell' acti- « nomicosi appartengono alla classe degli actinomiceti (strepto- « trichee).

« In questa classe, non ancora sufficientemente conosciuta « dal lato biologico e morfologico, si possono certamente riporre « oggi, alcune sottoclassi ».

Il *Gasperini* ed il *Rossi-Doria* (1) sarebbero riusciti ad isolare moltissime varietà di actinomices, come pure il *Berestneff*.

Dallo studio accurato delle osservazioni pubblicate mi sembra che le prove culturali e lo studio biologico del microorganismo coltivato, mentre ci rendono inclinati ad ammettere varie specie di microorganismi come produttori della malattia, non autorizzano in questo momento, a mio avviso, a fare dei gruppi speciali di forme morbose e di riporli fuori del genere actinomices (streptotrix).

In altri termini, quanto e dal *Gasperini* e dal *Silberschmidt* è stato ammesso.

In questo stato di cose, mentre mi sembra, per i caratteri surricordati di dover tener ferma la diagnosi di actinomices, non posso, per la forma a filamenti, per la disposizione delle parti che li compongono, per le reazioni chimiche, trarre delle conclusioni sulla sua varietà.

La mancanza di resistenza agli acidi fa escludere una

---

(1) Rossi-Doria, *Su di alcune specie di Streptothrix trovate nell'aria.* (Istituto d'Igiene, Roma, 1892).

forma di tubercolosi con forme filamentose, presenza di clave e disposizione raggiata, quale fra gli altri descrissero *Babes* e *Levaditi* (1).

I miei preparati furono gentilmente esaminati fra gli altri dai colleghi *Banti*, *Lustig*, *Burci*, *Gasperini*, *Guarnieri*, *Galeotti*, *Ceci*, *Tusini* ed altri, i quali tutti si pronunziarono in favore della diagnosi da me formulata. E la competenza di essi sembrami garanzia sufficiente anche ai più diffidenti.

A conferma poi della diagnosi di actinomices, mi sembra possa avere importanza il ricordare un dato della storia anamnestica. L'essersi sviluppata la malattia a breve distanza di tempo dall'esame, che il malato aveva fatto con le sue mani, d'un tumore actinomicotico del mascellare d'un bove durante un periodo nel quale il paziente aveva un intertrigo molto pruriginoso nella plica inguino-scrotale. Le sue mani infette, portate in quella località per il bisogno di grattarsi potevano avervi deposto il materiale che di là penetrato poteva essere benissimo giunto ad infettare il ganglio linfatico.

* * *

Quale è ora la distribuzione di queste forme micotiche nelle varie parti della neoproduzione?

Già come avvertimmo, la struttura di questa è svariata. Da un tessuto costituito quasi esclusivamente da cellule con poca sostanza intercellulare delicata, fibrillare o reticolare si passa ad un tessuto decisamente fibroso, ricco di nuclei grossi, con reticolo cromatico finissimo e con protoplasma talmente scarso da sembrare che la membrana nucleare sia a contatto con le fibrille del connettivo.

I cespugli actinomicotici sono diffusi dovunque. Più prevalentemente li osserviamo in mezzo al tessuto ricco di cellule, ma essi si trovano anche dove si ha il tessuto fibroso ben costituito, senza che il cespuglio actinomicotico presenti tali reazioni da ritenerlo in via di involuzione.

---

(1) Babes et Levaditi, *Archives de Médecine expérimentale*, pag. 1041, Ann. 1897, 1me serie, Tome IX. Paris, Masson, edit.

In qualche punto, subito attorno al cespuglio actinomicotico, si ha una piccola zona incolora, pellucida, di ampiezza varia, come ho già indicato, ed al di fuori di essa le cellule si accumulano abbondantissime. Solo raramente esse formano in questo punto un insieme a sè, distinto dalle parti vicine, ma il più di sovente il cespuglio actinomicotico si trova intramezzato nel tessuto uniformemente costituito da cellule senza che intorno ad esso le cellule stesse presentino, per forma, reazione chimica, grandezza e disposizione, alcunchè di differente dalle altre.

Dove diversi cespugli sono molto ravvicinati fra di loro, le cellule che li contornano sono anche esse molto più addensate e riunite, in modo che non si distingue più intorno a ciascuno dei cespugli actinomicotici come un focolaio a sè.

Queste cellule sono costituite da un nucleo molto grande, rotondeggiante od ovoidale, con reticolo cromatico fine e sottile. Il loro protoplasma è piuttosto scarso. Altre cellule che si trovano in piccolo numero commiste alle prime all'intorno del cespuglio, hanno un nucleo molto ricco di cromatina, piuttosto piccolo, e protoplasma scarso. Alcune di queste ultime cellule hanno un doppio nucleo.

Altrove, il cespuglio actinomicotico si trova attorniato da poche cellule le quali appartengono a tratti di connettivo ricco di fibrille. Queste cellule mantengono gli stessi caratteri delle altre.

In qualcuna di queste cellule si hanno delle granulazioni di pigmento sanguigno, in altre granulazioni di grasso, in altre ancora delle granulazioni colorabili intensamente col metodo *Galeotti*. Colle colorazioni secondo il metodo di *Weigert* e di *Gram* però non si riscontrarono mai produzioni intracellulari da dovere ammettere l'inclusione del parassita nelle cellule medesime (*Hoche* [1], *Pawlowsky e Maksutoff* [2]).

In altri tratti il glomerulo actinomicotico si trova come

---

(1) Hoche, *Histogénèse du nodule actinomycosique.* (Archives de Médecine expérimentale, 1899).

(2) Pawlowsky et Maksutoff, *Phagocytose dans l'actinomycose.* (Annales de l'Institut Pasteur, 1893).

inglobato in mezzo al connettivo fibroso, circondato da un sottile strato di cellule col solito aspetto.

I cespugli actinomicotici, come abbiamo già detto, sono circondati, il più spesso, da una zona poco colorabile e pellucida. Questa talvolta può mancare in totalità od in parte, ed allora i cespugli o sono in diretto rapporto con le cellule o sono come incastonati nel tessuto fibroso.

Il cespuglio può essere separato da un vaso da una semplice listarella di tessuto connettivo, ma in nessun vaso, quantunque essi siano numerosi, riescii mai a vedere figure che potessero riferirsi a filamenti di actinomices. I vasi costituiti da pareti deficienti mostrano assai di frequente l' endotelio in proliferazione o l' endotelio con nuclei molto grossi e rigonfiati, a reticolo cromatico delicatissimo ed appena percettibile.

Questo endotelio, a seconda dei casi, si mostra proliferato pur restando nel vaso un lume sufficiente, entro il quale si vede spesso del sangue. Ma altre volte la proliferazione dell' endotelio vasale è giunta a tal segno da venire a riempire tutto il lume vasale.

In alcuni preparati nei quali la sezione è caduta su di un vaso, longitudinalmente, in modo da poterlo seguire per un tratto abbastanza lungo, si può vedere tutto il passaggio progressivo da un punto dove si ha semplicemente l' endotelio con nuclei più grandi del normale e rigonfi, a quello in cui l' endotelio proliferato tappezza in più strati le pareti del vaso, per giungere fino ad un punto dove la proliferazione è talmente aumentata da occupare tutto il lume del vaso e da aversi l' apparenza di veri cordoni cellulari compatti, formati da cellule endoteliali.

In alcuni tratti del tumore i cespugli sono molto rari e qui il tessuto è prevalentemente ricco di cellule, oppure ha i caratteri d'un connettivo fibroso con cellule in discreto numero, a nucleo affusato e scarso protoplasma.

I vasi, anche in questi punti del tessuto, hanno pareti incompletamente costituite.

In altri punti del tumore, e lo ho già accennato un'altra volta, si ha un vero reticolo che, al di fuori dell'essere un

poco più spesso, ci ricorda quello delle glandole linfatiche e più specialmente dei seni, col suo endotelio di rivestimento.

Nelle maglie di questo tessuto reticolare, e sul reticolo stesso, si vedono abbondanti cellule epitelioidi bene costituite, con fatti di cariocinesi, ed accanto a queste, cellule con nucleo dai medesimi caratteri, ma con protoplasma più scarso.

In questo reticolo stesso, esistono cellule con i caratteri dei linfociti. In mezzo alle maglie del reticolo si notano abbondantissimi globuli rossi stravasati e questi stravasi sono distribuiti inegualmente nella neoformazione.

* * *

La qualità del parassita, la sua considerevole distribuzione nella neoformazione, lo sviluppo cellulare osservato in massima parte allo intorno dei cespugli actinomicotici, le nozioni di anatomia patologica che ci insegnano come processi identici a quello in esame possono esistere in tessuti di certi animali, i dati sperimentali fornitici dagli studii specialmente del *Gasperini*, ci fanno ammettere un nesso causale fra la neoformazione ed il parassita.

Se questo nesso causale però è ammissibile, tra il parassita e la neoformazione, come potremo noi qualificare quest' ultima?

In altri termini, si tratta di una forma flogistica, oppure ci troviamo in presenza di una vera e propria neoplasia?

Come è noto, le forme antinomicotiche, almeno quelle dell'uomo, sono certamente differenti da quanto noi riscontrammo, e, come ognuno sa, sono flogosi croniche con tendenza al rammollimento ed alla fusione purulenta, almeno quando datano da un certo tempo, quando il parassita è in attività ed il processo ha sede nelle parti molli.

Nel nostro caso si è avuto uno stimolo che ha prodotta una iperplasia cellulare, una parte della quale ha dato poi luogo ad un tessuto perfetto (fibroso), il quale è stato capace di vivere a sè, senza subire nè degenerazioni, nè involuzioni,

determinando un aumento di volume lento e progressivo dell'organo nel quale si è impiantato.

Questa neoproduzione che istologicamente non ha tutte le caratteristiche del granuloma nè del tumore, macroscopicamente considerata, nella sua grandezza, forma, uniformità di aspetto, consistenza, rapporti con le parti vicine, avrebbe potuto venire ritenuta come un neoplasma. Ed anche per lo andamento clinico sarebbe appoggiata l'ipotesi di un tumore.

Ora io mi domando se nello stato attuale della scienza, nella quale poco si sa, sulla etiologia dei tumori, non sia il caso di prendere in considerazione queste affezioni e vedere se tra esse non sia da riporsi la nostra osservazione.

In quale gruppo di tumori dovremmo riporre la produzione morbosa in esame?

Certamente fra i tumori connettivali.

La svariata modalità degli elementi che costituiscono la neoproduzione da noi studiata, il loro aggruppamento, le loro qualità, la loro struttura e la disposizione dei vasi, non corrispondono totalmente alle caratteristiche del sarcoma, del fibrosarcoma e dell'endotelioma.

Per molti caratteri dovremmo arrestarci piuttosto alla diagnosi di fibroma.

Se però si tien conto della ricchezza delle cellule che costituiscono la neoformazione, della loro varietà e della loro distribuzione non ci crediamo autorizzati a qualificare la nostra affezione come un vero fibroma.

Studiando infatti accuratamente la istogenesi della neoformazione in esame, si è veduto come le cellule in massima parte appartenessero al tipo endoteliale.

Ora lasciando la parte che può spettare, nella produzione di esse, alle cellule fisse del connettivo e, secondo alcuni, anche alla trasformazione dei leucociti, certo è che le modificazioni che abbiamo notato nell'endotelio dei seni depongono per una attivissima compartecipazione di questo, alla formazione della neoproduzione.

È noto che, quando questi elementi danno origine a veri e propri tumori, si hanno più comunemente delle forme di

endoteliomi o sarcomi con apparenza istologica ben differente da quella che noi abbiamo avuta sott'occhio nel nostro caso.

Costretti ad abbandonare l'ipotesi di un tumore, ci domandiamo se la forma in esame non sia dovuta a condizioni morbose speciali.

Volendo trovare appoggio nelle osservazioni anatomo-patologiche per conferma della nostra ipotesi, ci troviamo sconfortati in quantochè non esiste, a nostra cognizione, un caso di una infezione actinomicotica primitiva, limitata ad una glandola linfatica, nell'uomo, come nel caso che ho descritto.

Dovrebbe prendersi in considerazione l'ipotesi che la forma speciale fosse dovuta ad una specie particolare di actinomices o ad una virulenza pure particolare del micromicete.

Infatti, come sopra notammo, le varietà di actinomices sono molte ed il loro studio è, per ora, incompleto sia dal lato botanico, sia da quello anatomo-patologico e sperimentale.

Se nel nostro caso le prove culturali fanno difetto, le prove micro-chimiche ci depongono per l'esistenza non dubbia di una varietà di actinomicosi.

Ora se, come in seguito diremo, la infezione è avvenuta dal bove, dobbiamo ragionevolmente ammettere che si tratti di una varietà solita a riscontrarsi in questo animale nel così detto sarcoma della mandibola.

E questa varietà saremmo incoraggiati ad accettare in quanto, come è noto, nel bove il processo isto-patologico è molto simile al nostro.

Le infezioni actinomicotiche dell'uomo, hanno dato però fino a prova in contrario, rammollimenti, fusioni purulente, prima ancora che il processo fosse arrivato ad uno sviluppo quale si è avuto nel caso in esame.

Potrebbero prendersi in considerazione anche la virulenza del parassita, le sue condizioni di vita, il suo ricambio, in altri termini, l'azione e la tossicità dei suoi prodotti, ma nulla su questo possiamo rispondere, e solo possiamo dire che, per l'aspetto e per le reazioni micro-chimiche, il parassita apparisce in pieno rigoglio, e che nell'uomo le forme fino ad ora state osservate sono caratterizzate dalla poca vitalità del

tessuto neoformato, cosa che si estrinseca con rammollimento, con ulcerazioni ed altri fatti, dei quali non si ha traccia nel nostro caso.

Non resta quindi, per spiegare la struttura istologica della neoproduzione che a prendere in considerazione l'organo, nel quale ha sede il processo morboso. Non tutti i tessuti infatti reagiscono in modo uguale di fronte agli agenti patogeni.

La ubicazione della neoplasia, il modo di insorgere, il decorso, già facevano sospettare che la sede di essa fosse in una glandola linfatica.

Quei tratti di tessuto linfoide che si sono trovati più o meno alterati nella neoformazione, ci confermano pienamente nella nostra convinzione.

Nella glandola linfatica, per influenza di agenti patogeni, si sviluppano delle alterazioni che possono ricordare quanto noi si è osservato.

Ad esempio, e qui lascio la parola allo *Ziegler* (1) a proposito della tubercolosi delle glandole linfatiche: « Non tanto infrequentemente nello sviluppo dei tubercoli nelle glandole linfatiche, le manifestazioni infiammatorie e l'accumulo di leucociti sono minimi nel parenchima glandolare.

« Tutta la malattia consiste essenzialmente in una progressiva neoformazione di cellule epitelioidi le quali formano focolai nodulari, i quali confluiscono in modo che il tessuto linfoadenoide viene ad essere diminuito e ridotto a qualche piccolo cordone, mentre il restante del tessuto consiste di grosse cellule rotonde, stellate o fusiformi che si differenziano notevolmente dai linfociti. I processi di caseificazione si verificano talora molto tardi, benchè in un tempo più o meno lungo, possano avvenire più qua e più là delle degenerazioni ialine o possa il tessuto trasformarsi in masse prive di nuclei e splendenti.

« Il processo indicato, che anatomicamente conduce ad una iperplasia magnicellulare della glandola linfatica è sempre

---

(1) Ziegler, *Lehrbuch der Pathologischen Anatomie.* (Jena, G. Fischer, 1901).

accompagnato da un ingrossamento della glandola linfatica, fino al volume di un uovo di piccione o di pollo ».

Il *Durante* (1), a proposito di certe forme di linfoadenite sifilitica si esprime così:

« L'aumento di volume e di consistenza della glandola è dovuto ad una attivissima neoformazione di endotelii dei seni e degli spazii linfatici, alla quale prendono pure parte gli endotelii del reticolo, mentre i cordoni ed i follicoli si impiccoliscono e divengono sempre più poveri di elementi linfoidi.... Il tessuto fibroso e l'endoteliale mano mano prevalgono sul linfoideo.... infine il tessuto linfoide scompare, gli endotelii si trasformano in tessuto fibroso che retraendosi giunge a farsi impercettibile ».

Ed anch'io, esaminando svariati casi di tubercolosi ghiandolare ho trovate delle forme che ricordavano quella descritta dallo *Ziegler*. Però, mentre in queste forme, quando hanno toccato un certo volùme, (per esempio come quello del caso nostro) si hanno fatti degenerativi, nel nostro caso si è detto che questi mancavano e che ovunque si mostrava la tendenza alla produzione di un tessuto connettivo fibroso, bene organizzato, simile al normale, e forse soltanto un poco più ricco di elementi cellulari.

Quanto alla origine di questo connettivo, esso può essere stato prodotto da una ulteriore trasformazione delle cellule fisse del connettivo, ed anche dalla trasformazione stessa delle cellule epitelioidi sviluppate dai vasi e dallo endotelio dei seni, quantunque le ricerche embriologiche recenti non deporrebbero troppo per questa supposta trasformazione che del resto dai più si ammette.

Che l'endotelio dei seni specialmente possa essere stato il punto di partenza della neoproduzione, oltre che i fatti riscontrati nello studio del prodotto patologico lo fa supporre anche il meccanismo di infezione.

Nel nostro paziente infatti, secondo quanto ci resulta dalla

---

(1) DURANTE, *Patologia e terapia chirurgica.* (Roma, Società Ed. Dante Alighieri, 1895).

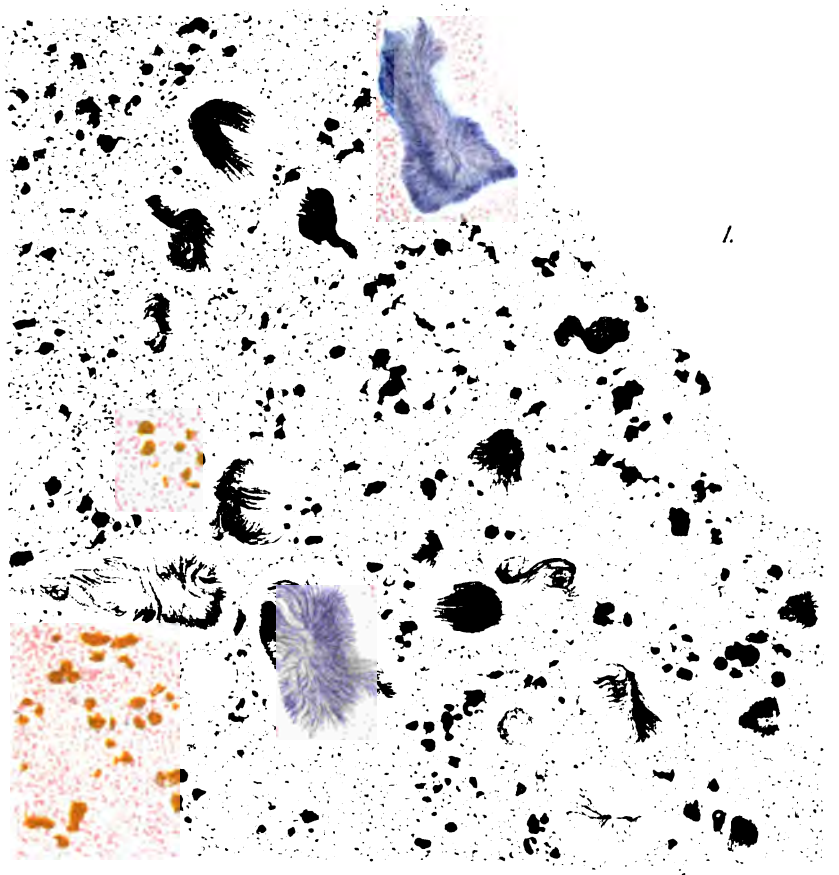
storia anamnestica, la infezione parrebbe si fosse prodotta in questo modo. Il Moriani avrebbe portato l'agente infettante, a mezzo delle sue mani, in corrispondenza di quelle soluzioni di continuo della pelle che esistevano nella plica femoro scrotale, per causa di un intertrigo. L'agente patogeno, senza dare localizzazioni nel punto di penetrazione, attraverso le vie linfatiche sarebbe giunto nella glandula invadendone dapprima i seni.

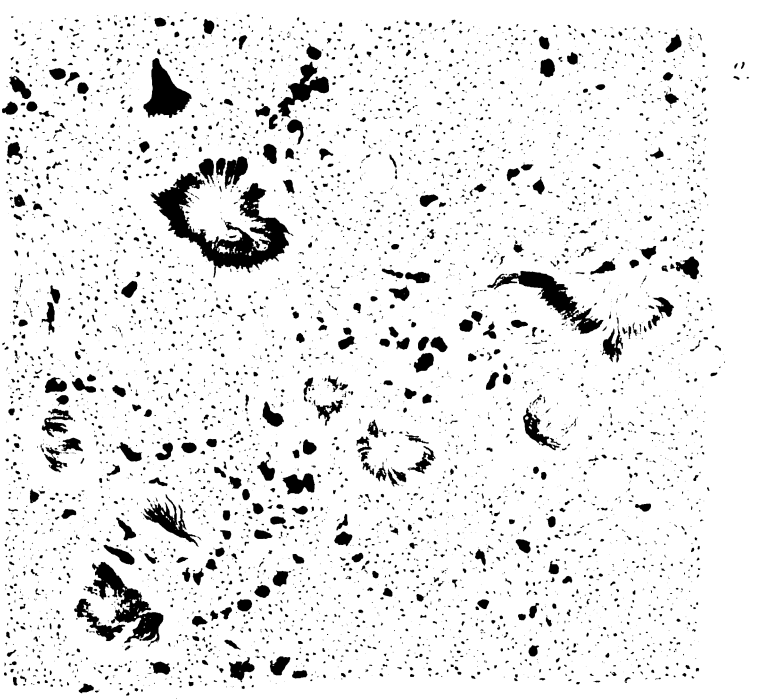
Soffermatosi in questi, l'agente infettante vi avrebbe suscitata quella attivissima proliferazione, per la quale si sarebbe prodotta la neoformazione che abbiamo descritta.

* * *

Volendo tener conto della storia clinica, del decorso, ed anche del reperto anatomo patologico macroscopico e microscopico, potremmo venire dunque alla conclusione:

Che esisterebbe una actinomicosi primitiva di una glandola linfatica, la quale per andamento clinico, per caratteri obiettivi, per caratteri strutturali macroscopici e microscopici, segnerebbe quasi un passaggio tra processi flogistici cronici e veri neoplasmi.




E. Colzi – *Contributo alle lesioni prodotte dal fungo raggiato*

3

F. Colzi – *Contributo alle lesioni prodotte dal fungo raggiato*

F. Colzi - *Contributo alle lesioni prodotte dal fungo raggiato.*

7.

F. Colzi - *Contributo alle lesioni prodotte dal fungo raggiato*

F. Colzi - *Contributo alle lesioni prodotte dal fungo raggiato.*

R. Istituto di Studii Superiori Pratici e di Perfezionamento in Firenze.
Laboratorio di Clinica Chirurgica diretto dal Prof. Colzi.

ALCUNE RICERCHE

# SULLA COMPOSIZIONE DEI LIQUIDI D'IDROCELE.

**DOTT. OSCAR MARCHETTI**
secondo assistente.

Come contributo alle ricerche anatomo-patologiche che ho intraprese sulle vaginali del testicolo in quella malattia che va sotto il nome di periorchite essudativa sierosa cronica o idrocele volgare, ho voluto indagare quantitativamente la composizione organica ed inorganica del liquido albuminoso che si raccoglie fra i due foglietti, parietale e viscerale, della vaginale nella predetta malattia. E mi sono assai facilmente persuaso a fare le ricerche che formano l'oggetto del presente lavoro, perchè molti autori si raccomandano a che nuove investigazioni siano intraprese a dilucidare la composizione, tutt'ora tanto oscura, degli essudati e trasudati nelle diverse malattie.

Già il dott. *Scarlini*, (1) per consiglio del Prof. *Colzi*, aveva iniziate delle ricerche sul quantitativo di sostanze solide del liquido d'idrocele volgare, venendo alla conclusione che una quantità più alta di esse si trova nei liquidi d'idroceli più antichi quasi ammettendo un rapporto diretto fra la quantità di residui secchi e l'età dell'affezione. Ma ciò contradirebbe ai dati del *Méhu* che ritenne non esservi differenza alcuna a questo riguardo.

Il *Breville* poi, della scuola di *Reclus*, ha nuovamente determinato il quantitativo in cenere del liquido d'idrocele vol-

(1) Omero Scarlini, Tesi di Laurea, 1898.

gare ma non riferisce sull'anamnesi degli individui cui appartenevano gli idroceli, nè sulle alterazioni della vaginale: per ciò dalle sue ricerche non si può trarre deduzione alcuna.

Determinazioni riferentisi alle sostanze proteiche non è a mia cognizione che ne esistano, se si fa eccezione per una riferita dal *Mya* e *Viglezio* allo scopo di concludere se l'ampiezza e la estensione di una sierosa modificano il liquido che in essa si raccoglie. In questo mio lavoro io dunque mi sono prefisso di portare un contributo alla conoscenza del quantitativo in sostanza organica ed inorganica e del rapporto fra le sostanze proteiche del liquido d' idrocele, ricercando se per avventura vi fosse una certa relazione diretta fra questi fatti ed il decorso e l'età dell'affezione e le alterazioni macroscopiche della sierosa che dà loro origine.

Il metodo tenuto per la separazione ed il dosaggio delle sostanze proteiche è quello classico d'*Olof Hammarsten*, di cui i piccoli inconvenienti sono largamente compensati dalla precisione e sicurezza veramente scientifica che esso offre e dalla semplicità del processo, del quale dirò succintamente essendo egli assai conosciuto da chi si occupa di simili ricerche. Ci si prefigge di separare e determinare quantitativamente le albumine e le globuline esistenti disciolte in un liquido organico. Per far questo, o si determina la quantità totale di sostanze proteiche e la quantità di globuline per dedurre il valore delle albumine, o, determinata la quantità delle albumine e delle globuline, si deduce il valore delle sostanze proteiche. Nelle mie ricerche io ho determinato il quantitativo di sostanze proteiche e quello delle globuline volendo mantenere le stesse condizioni seguite dal *Mya* e *Viglezio* nelle loro ricerche quantitative sulle sostanze proteiche del siero dei trasudati ed essudati in varie malattie.

Ecco in breve come procedevo: per il dosaggio delle sostanze proteiche *in toto* prendevo 10 cmc' del liquido d' idrocele, reso acido per l' aggiunta di acido acetico, e li scaldavo in una capsula fino ad ebullizione, continuamente agitando. Essendo il liquido d'idrocele assai ricco in proteine, trovai conveniente di addizionare il quantitativo di liquido con egual

volume di acqua stillata, e questo perchè con l'ebollizione non si fosse subito formata una massa compatta che difficilmente nei successivi trattamenti si sarebbe potuta lavare: con quest'avvertenza venivo invece ad ottenere delle proteine rapprese in piccoli fiocchi. Lasciate raffreddare le sostanze proteiche a questo modo coagulate, le versavo raccogliendole completamente in un filtro di peso noto: se il filtrato, saggiato con l'acido acetico e ferrocianuro potassico dava dello intorbidamento, lo facevo bollire nella stessa capsula ancora una volta versandolo poi di nuovo sul filtro e ciò ripetevo fino ad esser certo che tutte le proteine erano precipitate. Allora lavavo le proteine così raccolte nel filtro con acqua stillata bollente finchè il filtrato non cessava di dare col nitrato d'argento la reazione dei cloruri, quindi completavo il lavaggio con alcool ed etere.

Il filtro colle proteine precipitate veniva lentamente essiccato e quindi messo nel pesafiltri dopo 3 ore di essiccazione a 110°, veniva pesato.

Per la determinazione delle globuline a 10 cmc³ del liquido d'idrocele aggiungevo un egual volume di soluzione satura alla T. ordinaria di solfato di magnesio purissimo, rendendo alcalino il tutto con qualche goccia di ammoniaca. Lasciata questa miscela per 24 ore, agitandola di tanto in tanto, la portavo in seguito su di un filtro di peso noto e la filtravo. Se il filtrato era completamente limpido continuavo nei trattamenti successivi, altrimenti aggiungevo qualche cristallo di solfato di magnesio al filtrato e dopo qualche ora di riposo ripassavo sul filtro. Il precipitato rimasto nel filtro continuavo quindi a lavare con soluzione satura di solfato di magnesio fino a che il filtrato non dava alcun intorbidamento col reattivo di *Tanret*, e ciò per asportare completamente le albumine rimaste aderenti al precipitato. Dopo di che portavo il filtro, con il precipitato e con l'imbuto di vetro che lo sosteneva, nella stufa a 110° fino a completa coagulazione della globulina, che in seguito con acqua stillata bollente lavavo fino a che sul filtrato saggiato con cloruro di bario non si rilevava più la presenza di solfato di magnesio. Completavo in

seguito il lavaggio con alcool ed etere e quindi procedevo alle pesate previo essiccamento.

Per esser completo dirò che mi sono servito di filtri di carta svedese che pesavo col pesafiltri a tappo smerigliato, previo essiccamento a 110° fino a peso costante e che mantenevo nel pesafiltri chiuso in un essiccatoio con cloruro di calcio. Il liquido d'idrocele che serviva per queste determinazioni era sempre centrifugato per asportare da esso qualsiasi elemento organizzato e, con lo scopo solo di rendere più semplici queste ricerche, ho trascurato di valutare il quantitativo delle ceneri delle sostanze proteiche e delle globuline, sapendo che esso può minimamente influenzare i valori ottenuti.

Per determinare le sostanze solide o residuo secco ponevo 20 cmc³ del liquido d'idrocele in un crogiolo di porcellana accuratamente asciugato nell'asciugatoio con acido solforico, e pesato: lasciavo quindi evaporare il liquido prima a bagno maria, poscia in un bagno d'aria calda a 110°. Dopo alcune ore pesavo le sostanze fisse a 110°, in seguito procedevo all'incenerimento nella muffola e alle pesate fino a peso costante delle ceneri. Ecco un breve riassunto delle storie anamnestiche degli individui che hanno fornito il liquido d'idrocele, delle alterazioni delle vaginali e i risultati ottenuti in queste ricerche.

**Caso 1°** — V. B., di anni 41, colono. Nessun precedente personale ed ereditario degno di considerazione. L'idrocele si è determinato in seguito ad una percossa, due anni e mezzo fa, riportata dal paziente sul testicolo destro.

L'idrocele è andato aumentando progressivamente senza dar luogo ad alcun cenno subiettivo: esiste un'ernia inguinale bilaterale. L'idrocele è grosso quanto un mandarino: è di forma affusata e trasparente, non riducibile.

Il paziente viene operato col metodo *Bergmann*. Il liquido dell'idrocele, in quantità di cmc³ 50, è di colorito giallo pallido assai scorrevole e trasparente. Il suo peso specifico è di 1015, ha reazione alcalina e non coagula spontaneamente. Nell'interno della vaginale non si trova alcun corpo mobile: il testicolo e l'epididimo sono normali per forma e posizione. La vaginale, di poco ispessita, ha una superficie liscia che non rivela niente di speciale.

Esame del liquido: materie fisse a 100 per Kg. 57,801, di cui 48,800 organiche e 9,001 minerali; sostanze proteiche per $^0/_0$, 4,5537; globuline, 1,9864; albumine, 2,5673; quoziente proteico 1,84.

**Caso 2°.** — C. O., di anni 61, guardia campestre. — Nessun precedente personale ed ereditario degno di nota. L'idrocele data da 9 mesi e si è determinato senza causa apprezzabile. È affetto il testicolo destro e la tumefazione, grossa quanto una testa di feto, ha forma ovalare con polo maggiore in basso e superficie liscia; non si ha riducibilità e manca la trasparenza. Questo idrocele è diminuito qualche volta di volume per poi aumentare sempre più e dà al paziente un senso di uggia e di stiramento.

Il paziente viene operato col metodo *Bergmann*.

Il liquido in quantità di cmc$^3$ 450 è di colorito giallo paglierino, scorrevole, trasparente: il suo peso specifico è di 1020 ed ha reazione alcalina: non coagula spontaneamente. Nella cavità della vaginale si nota un corpo mobile grosso quanto una capocchia di spillo: la vaginale, in specie la viscerale, è opacata, rugosa al tatto con placche biancastre di cui alcune isolate, altre confluenti; sulla superficie si nota poi qualche suffusione emorragica. Le condizioni di rapporto e di forma del testicolo e dell'epididimo sono normali.

Esame del liquido: materie fisse a 100 per Kg. 75,330, di cui 67,040 organiche e 8,290 minerali; sostanze proteiche, per $^0/_0$, 6,5950; globuline, 2,3390; albumine, 4,3560; quoziente proteico 1,94.

**Caso 3°.** — B. G-B., di anni 58, cuoco. — Nessun precedente ereditario degno di nota. Abitualmente sano, è stato operato di ernia inguinale sinistra sciolta due anni fa in codesta clinica.

Dopo quest'operazione si è accorto di un ingrossamento del testicolo sinistro che è andato man mano aumentando senza dar luogo a dolore o disturbo alcuno. Per questo non si è sottoposto ad alcuna cura ed avendo attualmente l'idrocele raggiunto il volume di un'arancia, il paziente, si decide ad un intervento operativo. L'idrocele ha forma allungata con polo minore in basso, è poco trasparente e completamente irriducibile.

Il paziente viene operato secondo il metodo *Bergmann* modificato.

Il liquido è in quantità di cmc$^3$ 350; è di colore giallo paglierino, di reazione alcalina e non coagula: densità 1021.

La vaginale parietale non è molto ispessita, la viscerale è opacata con qualche briglia in vicinanza dell'epididimo che la unisce alla parietale. Non si trova alcun corpo libero.

Il didimo e l'epididimo sono normali per forma e per grandezza.

Esame del liquido: materie fisse a 100 per Kg. 59,85, di cui 51,75 organiche e 8,100 minerali; sostanze proteiche per $^0/_0$, 4,9150; globuline, 1,9820; albumine, 2,9330; quoziente proteico, 1,47.

**Caso 4°.** — G. F., di anni 48, fabbro. — Nessun precedente personale ed ereditario degno di nota. Senza causa apprezzabile, dieci anni

fa si determinò un idrocele del testicolo sinistro: dopo tre anni, essendo aumentato di volume tanto da raggiungere quello di una grossa arancia, fu trattato colla semplice puntura.

Dopo circa 8 giorni da questo intervento si riformò del liquido nella vaginale e questo si mantenne senza più aumentare. Allo stesso tempo il paziente avvertì ancora un piccolo idrocele del testicolo destro, che lentamente andò aumentando raggiungendo il volume di un mandarino. Da circa 6 mesi l'idrocele destro cominciò a crescere assumendo le dimensioni di una grossa arancia e impedendo al paziente la deambulazione. L'idrocele sinistro ha forma rotondeggiante, manifesta è la fluttuazione e la trasparenza. L'idrocele destro ha forma bipolare con polo inferiore più grosso; è molto teso e non trasparente.

Il paziente viene operato bilateralmente secondo il metodo *Bergmann.*

Il liquido dell'idrocele destro è di colorito giallo trasparente, di densità 1018, non coagula spontaneamente, quantità cmc$^3$ 100. La vaginale è opacata ma sottile a superficie liscia: si nota un corpo mobile e sull'epididimo esiste una piccola ciste.

Didimo ed epididimo normali.

Esame del liquido dell'idrocele destro: Materie fisse a 100° per kg. 74,094, di cui 65,790 organiche e 8,296 minerali; sostanze proteiche per 100, 6,4660; Globuline, 1,8150; Albumine, 4,6510; Quoziente proteico, 2,56.

Il liquido dell'idrocele sinistro, in quantità di cmc$^3$ 50, è di colorito giallo-sporco, e sulla sua superficie si depositano pagliuzze di colestearina. La densità è di 1020, non coagula.

La vaginale è molto ispessita a superficie grinzosa, con placche cartilaginee disseminate, di cui una della dimensione di una moneta da 2 centesimi si trova nella vaginale testicolare. Nessun corpo mobile. L'epididimo, di consistenza dura, è trasformato quasi in un cordone.

Esame del liquido dell'idrocele sinistro: Materie fisse a 100° per kg. 81,107, di cui 71,543 organiche e 9,564 minerali; Sostanze proteiche per %, 6,9000; Globuline, 1,9820; Albumine, 4,9180; Quoziente proteico, 2,48.

**Caso V.** — C. F., di anni 36, colono. — Nessun precedente ereditario e personale degno di nota. Il paziente è bilateralmente ernioso. L'idrocele, di cui è affetto il testicolo destro, si è determinato circa 6 anni fa senza causa apprezzabile. Non ha mai dato molestia alcuna ed è andato aumentando progressivamente.

L'idrocele, grosso quanto un uovo di tacchina, ha forma rotondeggiante, è trasparente ed irriducibile.

Il paziente viene operato col metodo *Bergmann.*

Il liquido dell'idrocele, in quantità di cmc$^3$ 45, è di colorito giallo-chiaro, di reazione alcalina, con peso specifico di 1025.

La vaginale parietale è poco ispessita e sulla sua superfice si notano delle zone opache non rilevate; la viscerale è più opacata e l'opacamento è uniforme per tutta la superficie. Non vi è alcun corpo mobile e didimo ed epididimo conservano forma e posizione normali.

Esame del liquido (per la scarsità di esso si sono potute determinare solamente le sostanze proteiche): Sostanze proteiche per % 3,3540; Globuline, 1,0890; Albumine, 2,2650; Quoziente proteico, 2,08.

**Caso VI.** — C. C., di anni 43, colono. — Nato da padre ernioso è stato abitualmente sano e non ha mai patito di affezioni veneree. È ernioso da circa due mesi, e l'ernia si è manifestata in seguito ad alcuni sforzi di tosse. Il testicolo destro è stato sempre affetto d'idrocele, tanto che il paziente per tre volte fu fatto rivedibile alla leva militare. Il testicolo sinistro da 15 anni ha cominciato ad ingrossare assumendo il volume di un grosso uovo di tacchina e facendosi sede di un senso continuo di uggiosità. Trattandosi di un idrocele fu consigliato un intervento operativo.

L'idrocele destro ha forma bipolare con polo più grosso in basso, è irriducibile e poco trasparente.

L'idrocele sinistro ha forma rotondeggiante ed è più trasparente.

Il paziente viene operato bilateralmente col metodo *Bergmann*. Il liquido dell'idrocele sinistro, essendo in piccola quantità (circa 10 cmc$^3$), non si presta ad alcuna ricerca.

Il liquido dell'idrocele destro in quantità di circa cmc$^3$ 80, è di colorito giallo-pallido, di reazione alcalina, di peso specifico 1021. La vaginale parietale è ispessita in tutta la sua superfice e biancastra: la viscerale, pure ispessita ed a superfice biancastra e rugosa, ha qua e là delle placche cartilaginee confluenti. Esiste un corpo mobile peduncolato aderente all'epididimo.

Esame del liquido (anche in questo caso, per la scarsità di esso liquido, si è determinato solo il quantitativo proteico): Sostanze proteiche per %, 4,6720; Globuline, 1,8120; Albumine, 2,8600; Quoziente proteico, 1,25.

**Caso VII.** — B. A. di anni 37, vinaio. Abitualmente sano, ha sofferto due anni fa di bronchite. Da tre anni, in seguito di un'orchite traumatica, è affetto d'idrocele destro; da 24 giorni si è manifestata un'ernia inguinale destra in conseguenza di uno sforzo fatto nel sollevare un peso. L'idrocele, di forma rotondeggiante, è grosso quanto un mandarino, è irriducibile, completamente trasparente ed il testicolo è posto posteriormente.

Viene operato di erniotomia e cura radicale col metodo *Postempsky;* il sacco è sottile, vuoto e poco aderente, parete muscolare scarsissima. L'idrocele è trattato col metodo *Bergmann*.

La vaginale testicolare è opacata a placche, medesima cosa è della parietale che si mostra ispessita irregolarmente. La cavità dell'idrocele è divisa in concamerazioni da sepimenti dei quali alcuni sottili ed altri più spessi a mo' di cordone. Nessun corpo mobile.

Il liquido, in quantità di cm³ 55 ha il peso specifico di 1023, reazione alcalina, è citrino e poco trasparente.

Materie fisse a 100° p. kg. 82,403, di cui 73,594 organiche e 8,809 inorganiche: Sostanze proteiche p. %, 7,014; Globuline 2,143; Albumine, 4,871; Quoz. proteico, 2,27.

**Caso VIII.** — V. E. di anni 54, venditore ambulante. Abitualmente sano se si fa eccezione per qualche attacco di reumatismo articolare che imputa al metodo di vita; ha contratta a 21 anni un'infezione blenorragica. Da due anni il paziente si è accorto di una tumefazione del testicolo destro che fu diagnosticata per un idrocele. Questa tumefazione, senza causa alcuna, da circa tre mesi ha cominciato ad aumentare di volume dando impaccio nella deambulazione.

L'idrocele grosso quanto un'arancia ha forma rotondeggiante: è irriducibile e trasparente. Il testicolo è posto posteriormente. Esiste ancora un piccolo idrocele a sinistra. Viene operato bilateralmente di cura radicale *Bergmann* modificato.

Il liquido dell'idrocele sinistro non viene raccolto stante la piccola quantità, quello di destra è di colorito giallo denso, di reazione alcalina, di densità 1020; quantità 72 cmc³.

La vaginale del testicolo destro si mostra poco ispessita, con superficie opacata ma liscia. Qua e là si trovano delle suffusioni sanguigne. Nessun corpo mobile. Didimo ed epididimo normali.

Esame del liquido: Materie fisse a 100° p. kg. 104,213, di cui 95,022 organiche e 9,191 minerali; sostanze proteiche p. %, 9,0190; Globuline, 4,7560; Albumine, 4,2630; Quoz. proteico, 0,896.

**Caso IX.** — C. L. di anni 65, stalliere. Abitualmente sano fino all'età di 50 anni, da quest'epoca ha cominciato a soffrire di ambascia precordiale, di tosse e catarro bronchiale. Fu spesse volte ricoverato all'ospedale per vizio aortico. Il testicolo destro è affetto d'idrocele da circa 4 anni. Non ha mai avuto alcun dolore e l'idrocele è andato aumentando progressivamente. L'ammalato proviene da un turno medico dove fu ricoverato per bronchite: ha edemi alle gambe ed orine con albumina.

Stante le speciali condizioni del paziente esso viene operato, senza narcosi, a mezzo della puntura evacuatrice e successiva iniezione di liquido jodojodurato di *Lugol*. Manca per questo il reperto della vaginale.

Il liquido dell'idrocele è di colorito giallo denso, di aspetto torbiccio; è in quantità di cmc³ 150, di reazione alcalina, di peso specifico 1017.

Esame del liquido: Materie fisse a 100° p. kg. 62,601, di cui 54.203 organiche e 8,398 minerali; Sostanze proteiche p. % 5,2320; Globuline, 2,4170, Albumine, 2,8150; Quoz. proteico, 0,11.

**Caso X.** — R. V. di anni 38, bracciante. Precedenti personali ed ereditarii integri. Da vari anni ha notato in corrispondenza dello scroto

nella metà sinistra un volume maggiore che nella destra. Non sa di avere mai riportato traumatismi, nè mai vi fu occasione da che questo fatto si originasse. Da circa due anni, ma più specialmente da pochi mesi, il paziente ha notato un aumento pregressivo della tumefazione della parte sinistra delle scroto, tanto da recargli molestia nel camminare e nel lavorare.

L'idrocele è grosso quanto un pugno ed ha forma leggermente allungata, è indolente, irriducibile, fluttuante e completamente trasparente.

Viene operato col metodo *Bergmann*. Il liquido dell'ideocele, in quantità di circa 300 cmc$^3$, è di colorito giallo citrino, di densità 1020. La vaginale non è molto alterata: non vi si notano che leggeri opacamenti ed è leggermente ispessita verso l'epididimo. Didimo ed epididimo normali. Nessun corpo mobile.

Esame del liquido: Materie fisse a 100° p. kg. 80,891, di cui 72,251 organiche e 8,640 minerali; Sostanze proteiche p. °/₀, 6,8602; Globuline 2,3574; Albumine, 4,5028; Quoz. proteico, 1,8.

TABELLA

| Numero progressivo | Età dell'individuo | Età dell'idrocele | Causa determinante | Quantità | Densità | Alterazioni della vaginale |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | anni | | | | | |
| 1 | 41 | a. 2 1/2 | traumatico. | 50 | 1015 | Vaginale poco ispessita a superfice liscia. |
| 2 | 61 | m. 9 | idiopatico | 450 | 1020 | Vaginale opacata, rugosa con placche cartilaginee e suffusioni emorragiche. Corpo mobile. |
| 3 | 58 | a. 2 | » | 350 | 1021 | Vaginale parietale poco ispessita; viscerale opacata con briglie che la uniscono alla parietale. |
| 4 | 48 sinis. | a. 10 | » | 50 | 1020 | Vaginale molto ispessita a superficie grinzosa con placche cartilaginee disseminate. |
| | 48 dest. | a. 7 | » | 100 | 1018 | Vaginale sottile liscia, opacata uniformemente. Corpo mobile. |
| 5 | 36 | a. 6 | » | 45 | 1025 | Vaginale parietale poco ispessita, viscerale opacata uniformemente. |
| 6 | 43 | a. 15 | » | 30 | 1021 | Vaginale parietale biancastra ed ispessita uniformemente. Vaginale viscerale ispessita, rugosa, biancastra con placche cartilaginee. Corpo mobile peduncolato aderente all'epididimo. |
| 7 | 37 | a. 3 | traumatico. | 55 | 1023 | Vaginale parietale biancastra ed ispessita irregolarmente: viscerale opacata, a placche. Cavità della vaginale divisa da sepimenti. |
| 8 | 54 | a. 2 | idiopatico | 72 | 1020 | Vaginale ispessita con superficie liscia opacata suffusione sanguigna a placche disseminate. |
| 9 | 65 | a. 4 | idiopatico in individuo aortico. | 150 | 1017 | — |
| 10 | 38 | — | idiopatico | 300 | 1020 | Vaginale leggermente ispessita a superficie liscia. Leggeri opacamenti. |

RIASSUNTIVA.

| Residuo secco a 100° | Sostanze inorganiche | Sostanze organiche | Sostanze proteiche p. % | Albumine | Globuline | Non precipitabili con calore, ac. acetico | Quoz. proteico |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 5,7801 | 0,900 | 4,880 | 4,5537 | 2,5673 | 1,9864 | 0,3264 | 1,34 |
| 7,5330 | 0,829 | 6,704 | 6,5950 | 4,3560 | 2,2390 | 0,1090 | 1,94 |
| 5,9850 | 0,810 | 5,175 | 4,9150 | 2,9330 | 1,9820 | 0,260 | 1,47 |
| 8,1107 | 0,956 | 7,154 | 6,9000 | 4,9180 | 1,9820 | 0,254 | 2,48 |
| 7,4094 | 0,929 | 6,579 | 6,4660 | 4,6510 | 1,8150 | 0,113 | 2,56 |
| — | — | — | 3,3540 | 2,2650 | 1,0890 | — | 2,08 |
| — | — | — | 4,6720 | 2,8600 | 1,8120 | — | 1,25 |
| 8,2403 | 0,880 | 7,359 | 7,0140 | 4,8710 | 2,1430 | 0,345 | 2,27 |
| 1,0421 | 0,919 | 9,502 | 9,0190 | 4,2630 | 4,7560 | 0,483 | 0,89 |
| 6,2601 | 0,839 | 5,420 | 5,2320 | 2,8150 | 2,4170 | 0,188 | 0,11 |
| 8,0891 | 0,864 | 7,225 | 6,8602 | 4,5028 | 2,3574 | 0,365 | 1,91 |

Nella sovraesposta tabella sono riassunti i risultati delle ricerche dalle quali possiamo concludere:

1°) che il residuo secco a 100° varia da un minimo di 57,801 p. kg. ad un massimo di 104,213.

2°) che le sostanze organiche variano da un minimo di 48,80 ad un massimo di 95,02.

3°) che le sostanze inorganiche mantengono un rapporto più costante oscillando da 8,10 a 9,56 p. kg.

4°) che le sostanze proteiche da un minimo di 3,3540 p. °/₀ vanno ad un massimo di 9,019.

5°) che il quoziente proteico, cioè il rapporto fra globuline ed albumine, varia da un massimo di 2,56 ad un minimo di 0,11.

6°) che fra le sostanze organiche si trovano sempre in quantità da 1 gr. a 4 p. kg., delle sostanze non precipitabili nè col calore ed ac. acetico, nè col solfato d'ammonio.

Se poi cerchiamo di raffrontare questi dati coll'età degli individui che hanno fornito il liquido d'idrocele, e coll'età dell'idrocele, vediamo che nessuna legge fissa si può trarre a questo riguardo, ed a questa medesima conclusione si arriva cercando un rapporto con lo stato di alterazione della vaginale, perchè casi con gravi alterazioni della sierosa presentano liquidi il cui contenuto solido e quoziente proteico è indifferentemente maggiore o minore dei casi in cui la vaginale è quasi normale.

Ciò aveva veduto, per il solo contenuto solido il dottor *Scarlini*, e se egli, in opposizione al *Mehu*, che ha esaminati 70 liquidi, ha creduto di trovare una certa relazione fra il quantitativo di sostanze solide e l'età dell'idrocele, ciò evidentemente trova la ragione nello scarso numero (3) di liquidi esaminati.

Raffrontando poi i risultati di queste analisi chimiche sui liquidi degli idroceli volgari con quelli di altre ricerche da me precedentemente pubblicate sulla determinazione delle pressioni osmotiche di tali liquidi, come pure con i dati che esistono nella letteratura e che riguardano la composizione centesimale e la concentrazione molecolare di altri essudati,

possiamo concludere che differenze notevolissime esistono tra questi liquidi, la linfa dei tessuti ed il plasma sanguigno.

Tali differenze sono specialmente ragguardevoli in rispetto alla pressione osmotica, talchè si può dire che tra essudati sierosi e plasma sanguigno non esiste nè equilibrio osmotico nè eguaglianza di composizione centesimale. Al contrario è noto che questo equilibrio sussiste per riguardo ai liquidi contenuti nelle cavità sierose normali (legge dell' isosmoticità del *Winter* ) ed è pur noto che esso dipende dalla considerevole permeabilità delle membrane sierose di fronte agli elettroliti.

I processi infiammatorî che stabilitisi nelle sierose stesse, vi inducono fenomeni iperplastici del connettivo, raggrinzamenti ecc., hanno probabilmente per resultato l'abolizione della permeabilità delle membrane in maniera che esse vengono ad assumere le proprietà di membrane impermeabili per cui entrano in giuoco delle forze osmotiche, alle quali si debbono continuamente gli spostamenti dei liquidi che si esplicano con raccolte nelle cavità sierose alterate.

Probabilmente queste forze osmotiche vengono anche controbilanciate da pressioni idrauliche stabilitesi nelle cavità sierose per il sovrariempimento di esse e per la minima distensione di cui sono capaci. Ad equilibri così costituitisi si deve forse il lungo perdurare degli essudati una volta che si sian formati e la lora riproduzione dopochè furono estratti senza toglier di mezzo le membrane alterate.

Firenze, Febbraio 1902.

---

## Bibliografia.

OLOF HAMMARSTEN, Ueber das Paraglobulin. (Pflüger's Arch f. Physiologie, 1878).

G. FAVILLI, Gli albuminoidi del sangue nell' anemia. (Arch. per le Scienze Mediche, Vol. XIII, Anno 1889).

D. FRASSINETO, Contributo allo studio degli albuminoidi del siero sanguigno. (Lo Sperimentale (Biol.), 1895).

FANO e BALDI, Gli albuminoidi della linfa e del sangue nel lavoro muscolare. (Lo Sperimentale (Biol.), 1883).

MYA e VIGLEZIO, Ricerche quantitative sulle sostanze albuminose del siero dei trasudati ed essudati e del siero sanguigno su varie malattie. (Arch. Ital. Clin. Medica, 1888).

V. DUCCESCHI, Sugli albuminoidi del sangue in rapporto con gli effetti della tiroidectomia. (Lo Sperimentale (Biol.), 1895).

BOTTAZZI, Chimica fisiologica, Milano, 1899.

MÉHU, Traité de Chimie médicale, Paris, 1878.

DUPLAY-RECLUS, Traité de Chirurgie, Vol. 7. Paris, 1901.

Istituto farmacologico della R. Università di Sassari
e Laboratorio di Chimica farmaceutica del R. Istituto Superiore in Firenze.

# RICERCHE FARMACOLOGICHE SUL BROMO
# E NUOVO CONTRIBUTO ALLA CHIMICA FISIOLOGICA DEI GRASSI.

MEMORIA

DEI DOTTORI

G. CORONEDI E G. MARCHETTI
professore di Farmacologia sperimentale aiuto di Chimica farmaceutica

(Con una figura).

Sotto un titolo analogo nel 1896 noi pubblicammo le nostre prime ricerche intorno ai *grassi alogenati* riferendo quanto spettava all'acido oleico che ha assorbito lo jodio (1): e già una letteratura abbastanza ricca, italiana e straniera, è sorta in pochi anni su questo interessante soggetto (2). Subito dopo, com'era naturale, prendemmo a studiare gli acidi grassi non saturi contenenti un elemento così affine al cloro ed allo jodo, com'è *il bromo:* ma purtroppo una serie di gravi difficoltà tecniche ci costrinse al silenzio fino al 1899, in cui solo potemmo stampare le prime notizie sommarie intorno alla bromoleina (3). Rimanevano tuttavia da completare questi studî appena abbozzati: ed ora noi pubblichiamo il lavoro intero,

(1) G. Coronedi e G. Marchetti, *Ricerche farmacologiche sullo jodio e nuovo contributo alla Chimica fisiologica dei grassi.* (Annali di Chimica e Farmacologia, n. 10; Atti dell'Accad. med. fis. fiorentina, Seduta del 12 febbraio 1896).

(2) Si vegga: R. Luzzatto, *I grassi jodati*, ecc. *Rivista sintetica.* (Rivista veneta di Sc. med., 1900).

(3) G. Coronedi e G. Marchetti, *Sulla bromoleina: notizie chimiche, biologiche*, ecc. (Atti del Congresso di Med. interna, Roma, 1899; Settimana med. dello Sperimentale, anno LIII (Serie 2, anno 1), n. 44, ecc).

chiudendo con questo la serie generale delle nostre ricerche sui grassi alogenati.

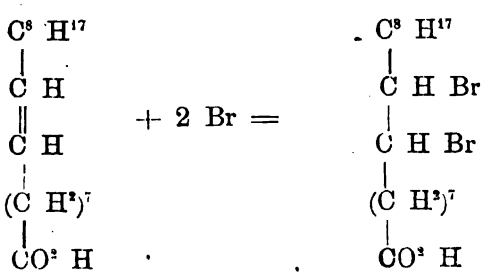
Benchè a prima vista possa quasi sembrare superfluo insistere su questo tema, che tanto grande analogia presenta col primo, noi abbiamo riscontrato in simile studio tale un numero di fatti e nuovi e interessanti, non solo dal lato farmacologico ma anche biologico generale, da ritenerci autorizzati a parlarne ancora.

D'altra parte l'importanza e la fama che ha acquistato in Germania un prodotto, analogo a quello da noi studiato, la bromipina di *Winternitz*, sorta insieme alla jodipina dopo le nostre prime ricerche sui grassi alogenati, ci hanno confermati nel proposito di pubblicare questa memoria completa.

## Generalità.

Nella medesima maniera che gli acidi grassi non saturi possono assorbire il cloro e lo jodio, *possono assorbire il bromo:* si originano così dei *grassi bromati* o trigliceridi d'acidi grassi bromati. Per semplicità chiamiamo bromoleina un olio di mandorle dolci, che contiene una certa quantità di Br, combinato all'acido oleico della trioleina.

L'acido oleico, prodotto non saturo con un solo doppio legame assorbe facilmente il Br, per trasformarsi nell'*acido dibromostearico:*




Di modo che il prodotto bromico da noi studiato altro non sarebbe che una soluzione di *bromostearina* nell'olio di mandorle. La quantità di bromostearina e rispettivamente di

olio, vengono stabilite dall' opportunità, perchè la prima è un liquido molto denso, quasi affatto scorrevole, che per ciò mal si presta alle necessarie manipolazioni dell'uso: motivo per cui si conviene di aggiungervi olio, allo scopo di renderla più fluida.

Si è quindi notato che una soluzione la quale per 100 cc. contenga gr. 20 di Br (equivalente a circa il 55 % di bromostearina) offre le proprietà richieste già accennate.

Il prodotto da noi adoperato ha l'aspetto di un liquido oleoso, abbastanza scorrevole, limpido, di color giallo paglia, di odore e sapore quasi identico a quello dell' olio da cui si prepara: si mantiene inalterato, sopratutto avendo riguardo di preservarlo dall' umidità e dalla luce.

Si presta a perfezione per essere introdotto nell' organismo per via gastrica, ipodermica ed endosierosa così nell' uomo come negli animali.

Allo scopo di intendere e valutare le esperienze eseguite sul contegno biologico di questo grasso bromato, crediamo opportuno far precedere alle medesime le principali notizie sui

## Metodi di ricerca.

Le vicende che un composto bromico incontra nel suo passaggio attraverso l'organismo non possono essere seguite ed interpretate, se non a condizione di possedere un mezzo conveniente a scoprire sempre la presenza dell'alogeno nei liquidi e nei tessuti dell'organismo stesso.

Tutti gli autori che si sono occupati della questione, si può dire fino a questi ultimi anni, non hanno potuto a meno di deplorare un difetto della tecnica in questo senso, cioè quando, com' è il caso più frequente, è necessario scuoprire assai piccole quantità di Br. Conseguenza naturale di questo stato di cose deve riputarsi la miseria di notizie che possediamo sul contegno biologico dei composti bromici ordinarî, e se solo da poco tale elemento è entrato nel dominio della Chimica fisiologica.

Per buona sorte tuttavia, benchè ancora rimanga strada da percorrere, oggi siamo in possesso di reazioni così sensibili del Br da colmare in parte le lacune lamentate.

Nel nostro studio è stata fatta per il Br tanto la ricerca qualitativa come quantitativa.

*a*) *Analisi qualitativa.* — Oltre al noto processo coll'acqua di cloro, il cloroformio od il solfuro di carbonio, per la ricerca del Br allo stato di bromuro direttamente sull'orina e sulle feci, nelle ceneri di entrambe, e in quelle dei singoli tessuti esaminati, noi non abbiamo trascurato di impiegare tutte le altre reazioni date per le migliori rispetto a sensibilità.

Allorquando si trattava, come quasi sempre, di rintracciare piccolissime quantità di alogeno nell'orina, questa, previa neutralizzazione o lieve alcalinizzazione, era fortemente concentrata colle dovute regole, e quindi con carbone animale decolorata. Per la ricerca sulle ceneri, nella preparazione del materiale si seguiva un processo identico a quello impiegato, al medesimo fine, nell'analisi quantitativa, e che descriveremo in seguito.

*Reazione di Baubigny.* — Questo Autore ha proposto di impiegare la *fluoresceina* per la ricerca del Br in una mescolanza salina (1).

La fluoresceina, in contatto di Br, si trasforma in *eosina*, che rappresenta un derivato tetrabromico della prima. Una listerella di carta asciugante imbevuta di una soluzione di fluoresceina, in presenza di tenui quantità di vapori di Br, da gialla diviene ben presto rosea. Tanto è squisita la sensibilità di questa carta reattiva che colla medesima si può dimostrare la presenza di gr. 0,001 di un bromuro alcalino in grammi 5-10 di sal marino.

Questa reazione, di cui con vantaggio si sono serviti *Baldi* per la ricerca del Br nella tiroide (2) e *Paderi* nella glandula pituitaria e nei centri nervosi (3), noi abbiamo pure adoperato, preparandoci delle cartine conservabili alla fluoresceina nel modo che segue.

Si fa una soluzione di fluoresceina (p. 1-2) in 100 p. di acido acetico allungato (40-50 %) e si filtra: nel liquido filtrato s'imbeve quindi un foglio di carta bilula, che, dopo essicazione, si taglia a striscioline. All'atto di usare la carta reattiva, che si sospende al collo del palloncino

(1) H. Baubigny, *Emploi de la fluoresceine pour la recherche de traces de brome dans un mélange salin.* (Ac. d. Sc., T. CXXV, 1897; Journ. de Pharmacie et de Chimie, T. sixième (six. Sér.), pag. 552).

(2) D. Baldi, *Presenza del bromo nella glandula tiroide normale.* (Boll. della Società med. chir. di Pavia, 1898).

(3) C. Paderi, *Sulla presenza del bromo nella ghiandola pituitaria e nel sistema nervoso centrale.* (Soc. med. chir. di Pavia, 1898).

o all'orificio della provetta in cui si contiene il materiale da analisi, è necessario inumidirla. Un lieve riscaldamento favorisce il comparire della tinta, che dal roseo passa per gradi al rosso vivo, se la quantità di Br è appena superiore alla semplice traccia.

Il Cl e lo J danno entrambi un composto colla fluoresceina, anzi l'ultimo dà un colore che si avvicina a quello del derivato tetrabromico: allo scopo di evitare uno scambio si sono cercati anzi degli espedienti tecnici, per i quali rimandiamo alla citata memoria di *Baldi*. Noi però a questi non abbiamo avuto bisogno di ricorrere, essendoci serviti del reattivo indicato solo per la ricerca del Br in presenza di Cl, col quale la cartina non arrossa, come abbiamo potuto osservare nelle prove in bianco da noi eseguite a scopo di studio. Piuttosto può verificarsi che la presenza del Cl, sopratutto in eccesso, attenui la tinta rosea dovuta al Br, come anche *Baldi* avrebbe pensato. Rimane tuttavia il fatto che la presenza del Cl, in generale, non nuoce allo sviluppo della reazione colorata, cosa di cui abbiamo potuto convincerci con numerose esperienze.

Nei casi dubbi tuttavia abbiamo l'obbligo di consigliare gli espedienti sopra ricordati, ovvero la ricerca del Br ancora per altra via.

Il metodo descritto in breve ci ha dato quasi sempre buoni risultati, e, per la sua sicurezza e relativa semplicità, ci sentiamo in dovere di raccomandarlo nella ricerca del Br in traccia.

*Reazione di Jolles.* — Nella tornata del 9 marzo 1898, al Club medico di Vienna, l'Autore annunziò il suo metodo per la dimostrazione del Br nell'orina [1]. Rilevando l'importanza di tale dimostrazione, notò come l'ordinario metodo presenti poco valore dal lato pratico, perchè, salvo casi eccezionali, è necessario operare sulle ceneri di grosse quantità d'orina (evaporata con idrato o carbonato sodico) trattando poi la soluzione di quelle con acqua di Cl ed agitando con etere o cloroformio: aggiunse che la dimostrazione diretta nell'orina è possibile solo quando questa contenga il Br in combinazione inorganica ed in forti proporzioni: ed anche in questo caso speciale non mancano le cause d'errore, poichè il cloroformio si colora in gialliccio in seguito ad eventuale presenza di pigmenti biliari, ovvero in azzurro per ragioni a tutti note.

Questi i motivi che indussero *Jolles* alla ricerca di altro metodo.

Egli prima di tutto osservò che trattando l'orina, contenente combinazioni bromiche, in soluzione acida con permanganato potassico a caldo, si ha separazione di Br che sfugge allo stato di vapore. A rilevare poi la presenza di quest'ultimo allo stato libero, pensò di utilizzare il *cloridrato di p-dimetilfenilendiammina*; la quale sostanza forma col Br

---

[1] A. Jolles, *Metodo per la dimostrazione del Bromo nell'urina.* (Vedi Riforma med., 1898, Vol. II, p. 249 e seg.).

un composto di colore rosso-violaceo. A tale fine egli preparò della carta reattiva, imbevendola in una soluzione acquosa di cloridrato di p-dimetilfenilendiammina all' 1 ‰. Se in contatto d'una simile cartina, inumidita, giungono vapori di Br, quasi in modo istantaneo si produce su di essa una macchia rosso-violacea nel centro, azzurro-verdastra verso la periferia, ove si può andare fino al bruno. Anche la presenza di grammi 0,001 di bromuro sodico in cc. 100 di orina può essere con questo mezzo bene riconosciuta!

Il Cl, afferma l'Autore, dà una reazione molto debole, che non influisce su quella del Br — lo J poi produce un tono di colore diverso, cioè giallo-bruno, per modo che anche tracce di Br possono venir dimostrate accanto a grandi quantità di J. Trattandosi poi di ricerca nell'orina, la presenza simultanea di combinazioni jodiche, salvo il caso che siano in proporzione molto forte, non andrebbe considerata, perchè causa l'azione del permanganato potassico in presenza di acido solforico a caldo, i joduri in gran parte divengono jodati. Il Cl in fine, dato anche che l'orina ne sia molto ricca, non disturberebbe la reazione del Br che si ricerca.

Il saggio sull'orina va praticato come segue. In un palloncino si pongono cc. 10 di orina da esaminare, si acidificano con acido solforico, quindi si aggiunge permanganato potassico fino a colorazione rossa persistente: all'orificio del palloncino si applica la carta reattiva e si riscalda ab. m. Esistendo Br, prontamente si ha la descritta reazione colorata. Volendo, alla carta anzidetta può sostituirsi quella alla fluoresceina.

La semplicità del metodo di *Jolles* per la dimostrazione del Br, ci parve in vero così attraente per il caso nostro da indurci a tentarlo.

Ed è ciò che abbiamo fatto, non senza però eseguire prima delle prove in bianco, destinate ad accertarne il valore.

Che in realtà la reazione colorata si ottenga trattando nel modo indicato orine contenenti anche piccolissime quantità di bromuri alcalini aggiunti ad arte, è un fatto indiscutibile. Che il tono di colorazione sia proprio quello descritto dall'Autore è del pari certo: noi tuttavia dobbiamo rilevare, e ciò non ci sembra privo d'interesse, il succedersi di varie fasi nella reazione colorata medesima. Da principio in fatti si osserva una colorazione diffusa azzurro-verdastra che dalla periferia del cerchietto di carta, corrispondente all'orificio del palloncino, si diffonde verso il centro del cerchietto stesso, ove però pian piano il colore diviene manifestamente rosso-violaceo, tale conservandosi ancora se si continua a riscaldare il liquido da analizzare.

Il Cl puro, da noi sperimentato, a primo aspetto determina una reazione identica, tranne che molto più debole, anche se in più forte quantità, di quella del Br: ma seguendo bene tutte le fasi si osservano punti importanti per una differenziazione. Si incomincia col solito colore az-

zurro-verdastro che va sempre più tendendo all'azzurro schietto, ma la tinta rosso-violacea al centro compare solo debolissima e tende a ritornare verso la periferia, invadendo la precedente colorazione di quest'ultima zona.

Lo J subito da principio determina un' intensa colorazione azzurro-verdastra che va diventando sempre più cupa, sopratutto al centro, in cui alla fine si scorge una macchia di color giallo-bruno. È indubitato che anche in presenza di discrete quantità di combinazioni jodiche, se Br esiste, si osserva la comparsa della macchia centrale rosso-violacea, più o meno carica a seconda della quantità di quest'ultimo. Occorre tuttavia in tale circostanza così grande abitudine alla reazione, che nei casi dubbi consigliamo sempre di ricorrere ad altri processi, più lunghi ma più sicuri.

Sicchè, tutto sommato, si può riputar buona e meritevole di considerazione la pratica proposta da *Jolles*. Non possiamo però dispensarci dalla raccomandazione di essere circospetti, come sopra abbiamo indicato, per evitare facili e possibili errori. Noi ci siamo serviti, con molto vantaggio, del metodo in parola a titolo di prova preliminare diretta sull' orina, prima di ricorrere alla ricerca sulle ceneri, cosa che abbiamo creduto bene di fare, nella grande maggioranza dei casi, quando la reazione colorata di *Jolles* era positiva, lasciando da parte la ricerca sulle ceneri quando la reazione citata mancava del tutto.

*b*) *Analisi quantitativa.* — Per questa abbiamo operato sulle ceneri. Il modo per ottenerle è stato sempre il medesimo per l' orina, le feci e i differenti tessuti; come più sopra abbiamo detto, talora le ceneri ci hanno servito anche per la semplice dimostrazione del Br.

Le orine, la soluzione acquosa delle feci venivano fortemente concentrate colle dovute regole, in presenza di soda e in fine ridotte a secchezza: il residuo solido seccato completamente in stufa a 110° C, poscia intimamente mescolato con carbonato sodico e calcinato.

Gli organi degli animali, morti naturalmente o dissanguati, e il tessuto adiposo erano finamente triturati, lasciati a lungo in digestione con liscivia di potassa o soda concentrata o mescolati con carbonato sodico, quindi la poltiglia si evaporava a b. m.; dopo completo essicamento, si calcinava.

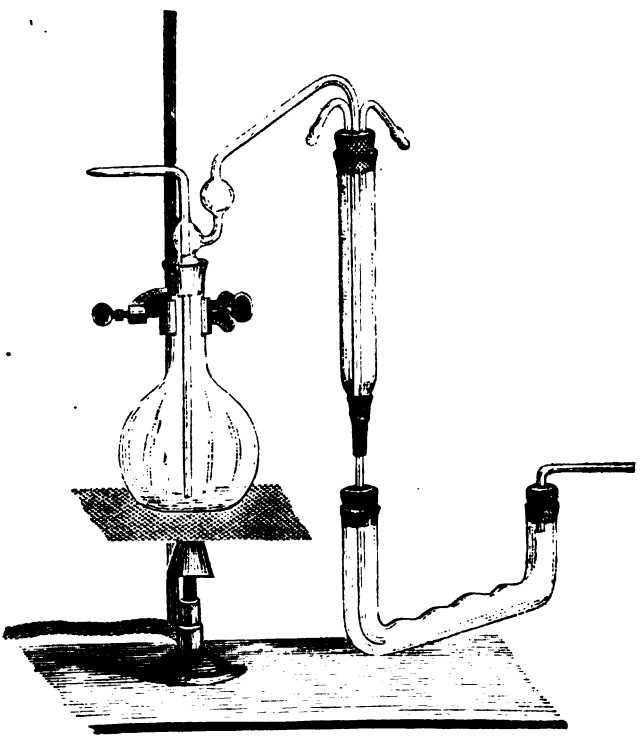
Ottenute le ceneri, si riprendevano con acqua od acido solforico allungato, il liquido acido era filtrato, e quindi serviva per l'analisi.

Nella determinazione quantitativa del Br ecco come abbiamo proceduto.

In un pallone, da circa cc. 500, munito di tappo a smeriglio con due tubulature saldate nel vetro, ponevamo il liquido da analizzare con aggiunta di gr. 10 di dicromato potassico e di cc. 20 di acido solforico diluito nel suo volume di acqua distillata: quindi acqua distillata fino a raggiungere un volume complessivo di cc. 180-200.

Dei due tubi fusi col tappo a smeriglio del pallone, l'uno arriva fino quasi al fondo del medesimo, mentre coll'estremo esteriore, ricurvo ad angolo retto, pesca nell'ambiente ed è destinato a trasportare una corrente d'aria attraverso il liquido; l'altro arriva a sfiorare il tappo e serve a dare uscita ai prodotti della distillazione, e va unito perciò, mediante saldatura, ad un piccolo refrigerante.

Riscaldando piano piano il pallone, il Br si svolge e, trascinato dal vapore acquoso, vien condotto in un tubo ad U, di forma speciale (v. figura) contenente una soluzione di solfito sodico, al cui contatto si



trasforma in bromuro di sodio. Il tubo ad U ha il tratto inferiore molto allungato e lievemente rialzato, mentre alla parte superiore di detto tratto vi sono delle bolle soffiate, in modo che alla porzione più bassa corrisponda la più piccola e le altre vadano progressivamente aumentando fino alla porzione più alta: con tale disposizione, le bolle gasose sono costrette a rimanere più a lungo in contatto della soluzione fissatrice, e si ottiene così la certezza che tutto il Br venga raccolto.

Avendo cura di riscaldare il pallone in maniera che il liquido bolla senza distillare, tutto il Br si svolge, e, a mezzo di una tenue corrente d'aria, quasi in totalità si trasporta nel tubo ad U. Trascorsa mezz'ora, si riscalda con maggiore energia, si aumenta la corrente d'aria e si fanno distillare pochi cc. di liquido. Dopo ciò si lascia raffreddare tutto l'apparecchio, seguitando poi per un'altra ora a farvi passare aria.

Smontato quindi il tubo ad U se ne versa il contenuto, insieme all'acqua di lavaggio, in una bevutina, si acidifica con acido nitrico, si riscalda per allontanare l'anidride solforosa, e si determina il Br col metodo di *Volhard:* a ciò si aggiunge una soluzione $N/_{10}$ di nitrato d'argento, e si titola l'eccesso di questo in una parte aliquota della soluzione filtrata, con soluzione $N/_{10}$ di solfocianuro potassico.

## Contegno biologico ed azione dei grassi bromati.

*a) Influenza degli alcali, della steapsina e dei bacteri in vitro.* Nelle nostre precedenti ricerche sui grassi jodati vedemmo, così colle prove in vitro come con quelle in vita, che essi risentono fortemente l'influenza dell'alcalinità del mezzo intestinale, più fortemente ancora quella dell'enzima steatolitico del pancreas e con grande probabilità anche quella dei bacterî: che la risultante di tutto ciò consiste nella liberazione dello J dal grasso corrispondente [1].

Ciò posto, abbiamo pensato bene prima di tutto di sperimentare nel medesimo senso col grasso bromato da noi ottenuto.

In un separatore si pongono alcuni cc. di olio bromato (previamente lavato con acqua distillata, la quale non asporta traccia di Br) e vi si aggiunge il doppio volume d'una soluzione di carbonato sodico al 2 %: si agita ripetutamente e si lascia tutto in riposo per circa 24 ore. Si separa il liquido acquoso, si pone in dializzatore, e sul dializzato si pratica direttamente la ricerca del Br, tanto con acqua di Cl e cloroformio quanto col processo della fluoresceina. Il risultato è completamente negativo.

Da un pancreas fresco (tolto da un porco sano) sgrassato, triturato e lasciato all'aria per 24 ore, si prepara un estratto acquoso-glicerico: si filtra alla pompa e si ottiene un liquido neutro, denso, torbido per contenere particelle glandolari sospese. Si determina l'attività della steapsina

---

[1] Oltre ai lavori citati, veggasi ancora: G. Coronedi e G. Marchetti, *Sul valore fisiologico e terapeutico degli Olî grassi jodati*, ecc. (Settimana medica dello Sperimentale, anno LII, 1898).

di detto estratto nel modo che segue. Ottiensi un grasso neutro puro, mediante trattamento di un po' d'olio d'oliva con idrato sodico quindi con etere: separazione, filtrazione, lavaggio con acqua dello strato etereo, ed evaporazione del medesimo a b. m. Il residuo, perfettamente neutro, si mescola ad un po' di estratto pancreatico, alcalinizzato con traccia di carbonato sodico, si aggiungono alcune goccie di tintura di laccamuffa, quindi alcune goccie di cloroformio puro. Si lascia tutto nel termostato a 37°-40°C per ore 3-30' circa. In modo progressivo si osserva il cambiamento di colore della tintura indicatrice, la quale in fine è divenuta rossa.

Stabilita l'attività dell'estratto riguardo alla steapsina; si dispongono le seguenti esperienze:

α) in una provetta si collocano: cc. 5 di estr. pancreatico, cc. 15 di acqua, 10 gocce d'olio bromato e 12 gocce di cloroformio puro.

β) in una provetta si opera c. s. meno che per l'aggiunta del cloroformio.

γ) in una provetta si opera come in *a*, tranne che all'acqua si sostituisce eguale volume di soluzione di carbonato sodico al 2 %.

δ) in una provetta si opera c. s. meno che per l'aggiunta del cloroformio.

Dalle ore 15 alle 18.30' si lasciano le quattro provette a temp. oscillante da 38° a 40°C.

Dopo ciò si pone a dializzare il contenuto di ciascuna adoperando cc. 30 di acqua distillata. Trascorse circa 16 ore si pratica la ricerca del Br nel dializzato.

Questa ricerca riesce negativa ad eccezione che per il contenuto della provetta β, il quale trattato con acqua di Cl e cloroformio rivela la presenza evidente di Br.

Il risultato di tali esperienze e di molte altre praticate sullo animale vivo e di cui ci occuperemo in seguito, ci dimostra già la resistenza che la bromoleina oppone all'opera degli alcali, dell'enzima steolitico del pancreas, contrariamente a quello che si verifica per i trigliceridi degli acidi grassi jodati. Le influenze microbiche, del valore delle quali abbiamo con ampiezza discusso in altra occasione, non possono escludersi fra i fattori atti a separare il Br dalla molecola organica, ciò che del resto già da noi è stato riscontrato a proposito dell'acido dijodostearico.

*b*) *Tolleranza, assorbimento* e *distribuzione del grasso bromato nell'organismo.*

È un fenomeno che colpisce la straordinaria tolleranza

di questo grasso, mediante il quale si possono introdurre per via gastrica, ipodermica ed endosierosa, eseguendo *una vera e propria alimentazione*, delle quantità enormi di Br negli animali.

Valgano, fra le tante, le esperienze che riferiamo.

*7 Giugno 1899.* — Colombo robusto di gr. 347. Insieme ad un poco di crusca si somministrano per bocca cc. 2 di bromoleina. L'animale non dà segno alcuno di risentire effetti locali e generali.

Ad un secondo colombo robusto e pressochè di ugual peso, si iniettano sotto la cute del dorso cc. 2 di bromoleina.

Nessun risultato come sopra.

*21 aprile 1899* — Coniglio bigio, adulto, robusto, di Kgr. 1,910. Si tiene in gabbia, alimentandolo con crusca ed insalata fresca. Il 3 maggio pesa Kgr. 2,195: colla sonda gastrica si somministrano cc. 4 di bromoleina. Il 4 si osserva solo che l'animale ha mangiato appena metà della razione: come sopra si somministrano cc. 5 di bromoleina, diminuendo la azione alimentare. Il 5 ha mangiato ancora meno: si ripete la somministrazione c. s. Il 6 si vede rimasto parte del cibo: si sospende l'esperienza; l'animale pesa Kgr. 1,850. Dal 6 al 13 maggio, in modo progressivo, aumentano l'appetito ed il peso corporeo che raggiunge i Kgr. 2,090.

*30 novembre 1901.* — Coniglio bigio, adulto, robusto, di Kgr. 2,100. In una volta sola s'iniettano sotto la cute del dorso cc. 10 di bromoleina. L'animale non mostra indizio alcuno di risentimento.

*30 novembre 1901.* — Coniglio c. s. In una volta sola si inietta la medesima quantità di bromoleina nel cavo peritoneale. Per un paio di giorni l'animale resta come stordito e rifiuta il cibo: poi si rimette del tutto.

*17 maggio 1900.* — Cane bastardo, di pelo rossiccio, adulto, robusto, di Kgr. 10. Da questa data a tutto il 3 giugno, prende giornalmente bromoleina col cibo, in dosi variabili da cc. 2 a 10 al giorno: quantità totale ingerita cc. 108. Nessun fenomeno speciale, ad eccezione di una lieve disappetenza e di un po' di fiacchezza, sopratutto negli ultimi giorni.

*20 marzo 1901.* — Cane bastardo, di pelo scuro, adulto, robusto, di Kgr. 12,100. Procedendo c. s., da questa data a tutto il 21 aprile, meno quattro giorni di riposo, si fanno prendere giornalmente all'animale cc. 5 di olio bromato: di cui, in tutto il corso dell'esperienza, si sono adoperati cc. 145, senza disturbo alcuno. Il 22 aprile pesa Kgr. 13,500, si ha cioè un aumento di gr. 1400 nel peso corporeo.

*30 novembre 1901.* — Cane bastardo, di pelo scuro, giovane, robusto, di Kgr. 5. Iniezione ipodermica di cc. 10 di bromoleina. Nessun fenomeno degno di nota.

Negli animali a sangue freddo si osservano fatti identici, che, per brevità, non abbiamo creduto necessario riportare.

Nell'uomo, tanto per via gastrica che ipodermica, è stato osservato completa tolleranza anche per dosi abbastanza alte del preparato: nei particolari riferiranno le esperienze cliniche appartenenti ad altri Autori. Intanto, almeno in parte, nel seguito di questa memoria, avremo occasione di ritornare su tale soggetto.

Sono rare ed eccezionali del tutto le osservazioni che parlano in senso contrario alle precedenti, le quali valgono per la assoluta maggioranza: ad ogni modo per fedeltà le riferiamo in riassunto.

Un piccolo coniglio, di gr. 408, dal 13 al 17 aprile 1899 ricevette, per via ipodermica, cc. 4 $^1/_3$ di olio bromato in quattro riprese: si osservò subito diminuzione dell'appetito e nell'ultimo giorno scariche diarroiche moderate: la mattina del 18 si trovò morto. Risultato dell'autopsia negativo: nella cavità peritoneale si osservavano piccole zolle di tessuto bianco, che aveva tutta l'apparenza di grasso, sparse in diversi punti.

Identico decorso ebbe un'altra esperienza praticata colla somministrazione ipodermica di cc. 4 $^2/_3$ di bromoleina, nello spazio di 5 giorni ed in 5 riprese, ad un piccolo coniglio di gr. 398.

In una cagnolina, di 45 giorni, del peso di Kgr. 1,532, che dal 31 dicembre 1901 al 9 gennaio 1902 aveva preso col cibo cc. 17 di olio bromato, in dosi variabili da cc. 1 a 3 per giorno, si osservò dimagramento, perdita dell'appetito più tardi, debolezza e tremore degli arti.

Le speciali condizioni in cui si svolsero queste tre esperienze, valgono per sè medesime a spiegarne i risultati, i quali solo in apparenza contraddicono le precedenti osservazioni, insieme alle numerose altre non riferite.

L'assorbimento del grasso bromato, come tale, si compie senza fallo per tutte le superfici sperimentate: ne fanno testimonianza la scomparsa del grasso dal luogo d'applicazione, la comparsa del medesimo in punti lontani da questo, la presenza nell'orina della massima parte del Br introdotto, in forma di combinazione organica, molto simile se non identica a quella dell'acido dibromostearico, come vedremo tra breve: ed in fine la comparsa del Br in tutti i punti dell'organismo in cui trovansi depositi adiposi.

Sarebbe difficile, per non dire assurdo, pensare che nel luogo di applicazione l'alogeno esca dalla molecola organica per raggiungerla più tardi di nuovo in punti lontani, nei magazzini di grasso della economia, sfuggendo, non si saprebbe perchè, almeno in massima parte la più facile eventualità di formare combinazioni inorganiche, che, per ragioni ben note, attraversano con relativa maggiore rapidità l'organismo!

Della questione generale relativa all'assorbimento dei grassi come tali ed in ispecie dei grassi alogenati, noi già ci siamo occupati nelle nostre osservazioni a proposito dello jodio. Scrivevamo allora: « iniettando l'olio sotto la pelle p. e. ed esaminando il coniglio dopo circa 4 giorni dall'ultima iniezione, si trova quanto segue.

Nel punto dell'iniezione un esteso strato di tessuto adiposo, bianco, prevalentemente solido. Al taglio si presentano come degli spazi lacunari, contenenti goccioline di olio di colore giallo arancio chiaro. Se si tritura il tessuto e si lava, l'acqua di lavaggio non dà reazione di I allo stato di joduro. Si lascia (il tessuto) per qualche ora a digerire con liscivia di potassa, si svapora a bagno di sabbia, e da ultimo si brucia in presenza di carbonato sodico: le ceneri danno fortissima reazione di I. Aperta la cavità addominale, aderenti alle anse dell'intestino, si trovano numerosi pacchetti di grasso, presentanti gli stessi caratteri anatomici del tessuto descritto in corrispondenza al punto dell'iniezione: il risultato dell'analisi chimica è pure identico ».

Così vanno le cose ancora per il grasso bromato. Già in modo diretto noi abbiamo veduto la scomparsa di questo, allorchè in piccola quantità venga iniettato sotto la cute del dorso di un rospo: dopo circa 24 ore dalla introduzione di poco più di cc. 2 di olio bromato, non si trova più traccia visibile del medesimo.

Il tessuto adiposo, raccolto da ogni parte dell'organismo degli animali ai quali il grasso bromato sia stato somministrato per qualunque via, dimostra di contenere Br. Tutti gli organi ne contengono, benchè in quantità molto minori. Se l'animale è ucciso p. e. 24 ore dopo una generosa iniezione, allora nel punto ove questa è stata praticata, si veggono goccioline oleose, mentre se la morte avviene dopo un tempo maggiore si nota in corrispondenza del punto indicato un tessuto adiposo, lardaceo, biancastro, piuttosto compatto.

Ad avvalorare questi dati sperimentali noi potremmo aggiungere delle considerazioni generiche fisiologiche sull'assorbimento del grasso, ma poichè con sufficiente ampiezza ne abbiamo discusso altrove, rimandiamo ai citati lavori. Qui

solo ci piace di rilevare anche a proposito della bromoleina, com' essa in modo notevole contribuisca alla dimostrazione del diretto assorbimento del grasso alimentare, e relativa utilizzazione del medesimo.

Siamo ora condotti allo studio della distribuzione del grasso bromato nell' organismo.

Valgano le due osservazioni che riproduciamo per intero.

Due conigli sani e robusti per 18 giorni, senza alcuna sofferenza, presero, per via ipodermica, giornalmente gr. 0,08 di Br sotto forma di grasso bromato: vennero quindi uccisi per dissanguamento.

Risultato dell' autopsia negativo.

*Il tessuto adiposo delle varie parti dell' organismo conteneva notevoli quantità di Br.*

Un saggio qualitativo praticato ancora su tutti gli organi, ne dimostrò la presenza.

L' analisi quantitativa diede che:

il fegato ne conteneva gr. 0,05 %
» cervello » » gr. 0,045 %.

Molto dimostrativa in proposito è la seguente esperienza.

Un grosso cane nello spazio di 18 giorni prese per bocca gr. 22,6 di Br sotto forma di olio bromato, in dosi oscillanti da cc. 2 a 10 al giorno.

La somministrazione cessò il 3 giugno 1900 e l' animale visse fino al 18 agosto.

Risultato dell' autopsia negativo.

*Il tessuto adiposo delle varie parti del corpo contiene enormi quantità di Br.*

Gli organi ne contengono pure, ed in quantità tanto più forti, a parità di condizione, quanto maggiore è il loro contenuto di grasso.

Notevole è che: gr. 0,1 di grasso danno una netta reazione di Br, quale appena si può ottenere da gr. 50 di cervello!

La tiroide, estirpata al medesimo cane subito dopo sospesa la somministrazione del grasso bromato, mostrò di contenere J in quantità dosabili, Br in traccia.

Dunque il grasso bromato si distribuisce in tutti i tessuti, ma specialmente nel magazzino naturale del grasso, cioè nel tessuto adiposo.

c) *Azione del grasso bromato.*

Noi pensammo di indagare se questo preparato bromico spiegasse nell' organismo l' azione propria, caratteristica degli

altri noti composti del Br, consistente specialmente in effetti depressivi sul sistema nervoso. Ma la natura singolare, dal punto di vista biologico, della molecola dell'acido dibromostearico che, come in parte abbiamo fin qui veduto, offre una notevole stabilità, già per se stessa resa evidente dalla tolleranza straordinaria che gli animali presentano rispetto alla medesima, e la lentezza del suo assorbimento, ci distoglievano dal ripetere senz'altro le classiche esperienze che l'*Albertoni* aveva eseguito coi bromuri, composti di proprietà fisico-chimiche troppo diverse da quelle dell'acido dibromostearico da noi studiato. Credemmo miglior cosa battere un'altra via, più atta a condurci allo scopo.

Innanzi tutto abbiamo preparato degli animali con una intensa bromizzazione, a parità di condizioni, mediante bromuro sodico e mediante grasso bromato, prolungando per un tempo più o meno lungo, variabile da pochi giorni ad un mese, l'anzidetta preparazione.

A tale punto, adoperando sempre ancora animali di controllo, somministravamo, in dose conveniente, una sostanza tossica provocante una forma epilettoide sperimentale. Per verità tuttavia dobbiamo dire che il risultato fu meno brillante ed evidente di quanto credevamo a priori: nè, dopo tutto, ci siamo molto sorpresi di ciò, atteso che troppa differenza corre, per ragioni facili ad intendersi, fra l'epilessia sperimentale ottenuta coll'eccitazione elettrica dei centri motori corticali, e, sopra tutto, fra l'epilessia genuina e quella che si sviluppa per l'azione, sempre complessa e tumultuosa, d'un veleno energico; che, d'altra parte, andando a colpire simultaneamente o quasi altri centri di funzioni indispensabili alla vita, rende oscuro il quadro o non lascia il tempo necessario ad una buona osservazione. Nè valgono a riparare al danno gli sforzi che lo sperimentatore fa in senso contrario, affaticandosi nella ricerca d'una dose atta a circoscrivere il risultato al fenomeno di cui egli vuol studiare il decorso ed il determinismo, adoprando p. e. piccole dosi: perchè assai di rado, per non dire mai, avviene di incontrare la giusta misura, mentre di regola o non si ottiene ciò che si vuole, o, insieme al desiderato fe-

nomeno, si sviluppano ancora altri fatti, che vanno d'altronde scansati per raggiungere il giudizio preciso.

Ad ogni modo riproduciamo un'esperienza tipo di questa prima serie da noi praticata: scegliemmo come veleno la picrotossina [1].

Due conigli sani, del peso ciascuno di Kgr. 2. Dal 21 al 28 maggio 1900 si somministrano, per via gastrica, all'uno A. cc. 18 di olio bromato, all'altro B. cc. 18 di una soluzione di bromuro sodico, equivalente, per contenuto in Br, al grasso bromato. Un coniglio C serve per controllo.

Il 29 maggio alle ore 10.45' sotto la pelle del dorso di ciascuno si iniettano gr. 0,02 di picrotossina sciolta in poca acqua.

A. (peso Kgr. 1,500): subisce la forma classica dell'intossicazione: solo i sintomi convulsivi intensi epilettoidi esplodono tardi e precedono la morte, che avviene verso le ore 12.

B. (peso Kgr. 1,750): subisce la forma classica dell'intossicazione, ma i sintomi convulsivi come sopra insorgono ancora più tardi, però con tale violenza che l'animale muore alle ore 11.45'.

C. (peso Kgr. 1,500): subisce la forma classica dell'intossicazione, però i sintomi convulsivi come sopra esplodono subito e colla massima violenza. L'animale muore alle ore 11.40'.

*Gley* [2] e *R. Cannizzaro* [3] dimostrarono sperimentalmente l'azione benefica che il bromuro potassico svolge sulle convulsioni epilettiformi che si manifestano nei cani stiroidati.

Per le ragioni sopra riferite in gran parte, con poca fiducia e tanto minore speranza di risultato felice ci accingemmo a tentativi sperimentali di questo genere che ci venivano consigliati. E per vero, da principio, estirpavamo l'apparato tiroparatiroideo a cani, previa alimentazione bromica, sopratutto per studiare la distribuzione dell'alogeno in questo tessuto ghiandolare. Nullameno le nostre cattive previsioni caddero

---

(1) Veggasi in proposito la bella pubblicazione di L. Guinard et F. Dumarest, *Recherches expérimentales de Pharmacodynamie sur la Coque du Levant et la picrotoxine.* (Archiv. internat. de Pharmacodynamie, Vol. VI, p. 288).

(2) E. Gley, *Recherches sur la fonction de la glande thyroïde.* (Arch. de physiologie, 1892, p. 311).

Id. *Action du bromure de potassium sur les chiens thyroidectomisés.* (Comp. rend. hebdom. d. Séanc. d. la Soc. de Biologie, T. IV, 9e Sér., p. 300).

(3) R. Cannizzaro, *Ueber die Function der Schilddrüse.* (Deutsch. med. Wochenschr., 1892, p. 181).

di fronte all'evidenza dei fatti: ma caddero però solo in modo apparente, poichè, secondo il nostro modo di vedere, appoggiato su fatti sperimentali già pubblicati, e sopra numerosi altri che formeranno oggetto di un prossimo nostro lavoro a sè, i risultati benefici che si ottengono in seguito alla somministrazione del bromo, in genere, negli animali stiroidati, si debbono ad altro meccanismo, in gran parte almeno, assai più complesso di quello spettante ad una semplice azione sintomatica sui fenomeni di eccitazione del sistema nervoso, che accompagnano il quadro già intricato delle tiro-paratiroidectomia [1].

Ad ogni modo però, ad esempio, riportiamo una sola fase di una delle numerose esperienze eseguite, perchè molto dimostrativa.

Cane giovane, bastardo, robusto, di pelo scuro, del peso di Kgr. 5, stiroidato il 23 novembre 1901. La sera del 30 improvvisamente è colto da un violentissimo accesso convulsivo epilettiforme della durata di circa 10'. Dopo un breve intervallo di calma mentre l'animale si mostra molto abbattuto, esplode un secondo accesso identico al primo. Le condizioni generali sono molto gravi. Si pratica un'iniezione ipodermica di cc. 10 di bromoleina alle ore 17 circa. La mattina del 1° dicembre è abbastanza tranquillo e di umore allegro, tuttavia verso le 11 insorge in modo brusco un accesso forte come sopra — alle 15 un secondo — un terzo alle 17: durante l'accesso si osserva dispnea e, negli intervalli di calma, un lieve tremore soprattutto degli arti posteriori. Il 2 dicembre discrete condizioni: si ha un accesso forte ma breve verso le 14.30'. Il 3 dicembre nessuno accesso, e così procede il seguito dell'osservazione, che appartiene ad altro lavoro speciale.

Senza dubbio, nel caso nostro, maggior valore dimostrativo dovevano avere le esperienze cliniche, mettendo alla prova il grasso bromato in quella forma morbosa in cui i bromuri in genere rappresentano il farmaco quasi specifico nel vero senso della parola: nell'epilessia. E così facemmo, ri-

---

[1] G. Coronedi e G. Marchetti, *L'ablazione completa dell'apparecchio tiroparatiroideo in due cani nutriti coi grassi bromati.* (Rivista veneta di Scienze mediche, 1901; Compt. rend. du V^e Congrès inter. de Physiologie, Turin, 1901; Arch. ital. de Biologie, T. XXXVI, p. 167, 1901; Studi sassaresi, anno I, Sez. II, fas. 2).

correndo alla gentilezza di alcuni Colleghi i quali si assunsero il compito di secondare il nostro desiderio. Le osservazioni relative, in parte fatte in parte da farsi ancora, verranno nei loro particolari pubblicate dai diversi Autori. Qui, a completare la parte sperimentale del lavoro, aggiungiamo solo quel che segue.

Le esperienze iniziate nel 1899 nel Manicomio di Roma, sembrano favorevoli a dimostrare che il grasso bromato possiede, rimanendo pari tutte le altre condizioni, effetto identico se non forse più rilevante dei bromuri alcalini, colla mancanza di tutti quegli inconvenienti che sogliono accompagnare l'uso di questi, specialmente se prolungato e generoso.

Ad un malato (appartenente alla R. Clinica medica generale di Sassari) sofferente (per lesione cerebrale) di emiparesi sinistra, accompagnata da accessi epilettiformi che si ripetevano a vario intervallo di tempo, ogni 8 o 10 o 15 giorni, con perdita progressiva della memoria, ecc., dopo l'uso dei bromuri, sperimentato con poco successo sintomatico, specialmente allo scopo di provarne la tolleranza, il 14 marzo 1901 si cominciò a somministrare l'olio bromato alla dose giornaliera di un cucchiaino da caffè (al pasto) per i primi 5 giorni, quindi due fino al termine della cura, cioè il 2 aprile successivo. Durante questo periodo di tempo l'infermo ebbe un notevole miglioramento: aumentarono le forze nel braccio e nella gamba, non si ebbero più accessi convulsivi. Sospese l'uso del farmaco, continuò tuttavia il benessere per alcuni giorni ancora, in capo ai quali però si riaccentuò la debolezza degli arti della metà sinistra e ricomparvero gli accessi epilettoidi.

Da notarsi, che oltre alle cure mediche, per tutto il tempo del suo soggiorno in Clinica, il malato venne metodicamente sottoposto ad applicazioni elettroterapiche.

Quest'anno si è ottenuto un risultato molto buono somministrando l'olio bromato ad una giovanetta sofferente di una grave forma istero-epilettica.

*d) Eliminazione e ritenzione del Br nell'organismo, quando venga somministrato acido dibromostearico.*

Questa parte è la principale del nostro studio, in quanto completa le precedenti, rende ragione dei fatti osservati, e rappresenta il punto di partenza dei corollari che dalle esperienze eseguite si possono trarre.

Il primo fatto considerevole e costante che incontriamo *è la straordinaria, anzi sorprendente, lentezza* colla quale si com-

pie l'eliminazione del Br, introdotto, per qualunque via, sotto forma di acido dibromostearico.

Un fatto simile noi già rilevammo per primi a proposito dei grassi jodati: qui però, a proposito dei grassi bromati cioè, il fenomeno è ancora esagerato. A dimostrazione chiara ed indiscutibile del fenomeno, valga per tutte la seguente esperienza.

Un grosso cane, che nello spazio di un mese circa prese per bocca grammi 36,21 di Br sotto forma di grasso bromato alimentare, cessandone l'uso il 21 aprile, alla fine dell'ottobre successivo eliminava sempre Br coll'orina!

Quantunque in detto animale possano essere intervenute circostanze che, pur non turbandone la perfetta salute, ne abbiano in qualche modo alterato il ricambio organico, il fatto tuttavia è così vistoso da conservare intero il suo valore dimostrativo nel senso indicato.

Considerevole è anche quest'altra:

Ad una grossa cagna da caccia il 16 maggio 1900 a ore 10. 20′ si fa mangiare una zuppa condita con cc. 10 di bromoleina, quindi si lascia l'animale senza cibo fino alla sera. Alle ore 12, alle 16 e alle 19 colla siringa si estrae orina dalla vescica. Non si riesce a dimostrarvi la presenza di Br in combinazione inorganica. Nell'orina raccolta la mattina del 17 si ha appena accenno di reazione.

Ma tale lentezza di eliminazione è certo più notevole nella introduzione ipodermica che in quella orale. Ecco un'esperienza in proposito:

A due conigli sani per 10 giorni si iniettarono sotto cute giornalmente cc. 2 (in due volte) di olio bromato: nelle ceneri dell'orina non si riuscì a dimostrare Br. Si raddoppiò la dose, e dopo altri 6 giorni si riesaminarono le ceneri di tutta l'orina raccolta in 24 ore: si ottennero appena gr. 0,048 di Br. da cc. 600 di orina! Le feci di questi animali contenevano appena traccia di Br.

In genere si può ritenere che l'eliminazione è sempre più lenta negli erbivori che nei carnivori e sopratutto negli uccelli: vedremo però che per l'acido dibromostearico, a differenza del corrispondente dijodostearico, la cosa va su per giù nella stessa maniera.

Le vie di eliminazione, almeno principali, sono: prima di tutto il rene, poi la superficie gastro-enterica.

Nella somministrazione ipodermica, colle feci si eliminano piccole quantità di Br, come fra gli altri casi (ved. in seguito) si osservò nei conigli, dell'ultima esperienza descritta. Nella somministrazione per bocca, il fenomeno è più evidente.

P. e. le feci di un cane che aveva preso forti quantità di grasso bromato col cibo, cessata la somministrazione, mentre non lasciavano vedere Br in combinazione inorganica, dalle loro ceneri si aveva forte reazione dell'alogeno.

Il passaggio del Br dalla madre al feto, potè essere bene dimostrato nella seguente esperienza.

Coniglia adulta, robusta, di Kgr. 2,335. Dal 3 al 5 maggio 1899 riceve, per iniezione sottocutanea, cc. 6 di olio bromato. Il 6 maggio partorisce quattro feti vivi, à termine. Dalle ceneri di uno di questi, ucciso subito dopo la nascita, si ottenne evidente reazione di Br: al contrario il risultato fu negativo sulle ceneri di un secondo feto, che aveva vissuto ancora 3 giorni.

Nei mammiferi (coniglio, cane, uomo) nelle linee generali, l'eliminazione si compie, salvo le osservazioni fatte sopra, presso a poco nella medesima maniera colla quale abbiamo veduto avvenire il fenomeno a proposito dei grassi jodati. Il grasso bromato offre una differenza notevole, rispetto a questi, negli uccelli, i quali invece si comportano quasi come i mammiferi, mentre a proposito dello jodio si comportano in maniera perfettamente contraria a questi ultimi. Ciò riguarda sopratutto la forma nella quale l'alogeno viene fuori dall'organismo.

Ora appunto si domanda in quale stato il Br, introdotto colla molecola dell'acido dibromostearico, abbandona l'organismo?

La risposta non è facile a darsi in modo categorico, benchè molti siano i fatti acquisiti in seguito a lunghe e laboriose ricerche.

Quando la somministrazione viene praticata nel coniglio, per via ipodermica o intra-peritoneale, quasi sempre riesce impossibile dimostrare

nell'orina direttamente, anche previa concentrazione di grosse quantità della medesima, il Br in forma di combinazione inorganica e sopratutto di bromuro.

Al contrario, le ceneri di queste orine danno sempre più o meno intensa reazione di Br, secondo i casi.

Dopo la somministrazione di discreta quantità di grasso bromato per bocca, nel medesimo animale, può aversi una lieve reazione dimostrante la presenza di Br, come bromuro, operando direttamente sull'orina. Ma anche in tali circostanze dalle ceneri orinarie si ha intensa reazione dell'alogeno, non spiegabile colle piccole proporzioni di questo già dimostrate in combinazione inorganica.

Nel cane, presso a poco le cose vanno nella stessa maniera: specialmente operando su molti cc. di orina, p. es. 600–700, direttamente, in seguito a somministrazione di forti dosi di grasso bromato per bocca, si ottiene discreta reazione di Br sotto forma di bromuro. Ma intanto dalle ceneri, anche di pochi cc. della medesima orina, si ha sempre, in confronto, fortissima reazione dell'alogeno!

La ricerca eseguita sopra un litro di orina umana, che potemmo avere a nostra disposizione, ci condusse a un risultato simile.

Già abbiamo accennato che anche negli uccelli si osservano quasi gli stessi fatti: tanto se si somministra il preparato per via della bocca che per via ipodermica, può sempre dimostrarsi Br, in forma di bromuro, operando sulla soluzione acquosa degli escrementi: la reazione però è sempre molto debole. Dopo la somministrazione per bocca ancora si ottiene dalle ceneri degli escrementi tale una reazione di Br, da non essere in rapporto di sorta colla tenue quantità di Br in combinazione inorganica, direttamente dimostrata come sopra.

I fatti riferiti parlano senza dubbio in favore della comparsa, nella maggior parte, del Br *in combinazione organica* nell'orina.

Al medesimo risultato ci avevano già condotto le nostre esperienze sull'eliminazione dei grassi jodati. Da grosse quantità di orina, appartenente ad animali che avevano assunto I unito alla molecola di un acido grasso non saturo, per via ipodermica, peritoneale ed endovenosa, noi ottenemmo piccolissime proporzioni di *una sostanza organica, ricca di I, priva di N, di natura acida, con caratteri fisico-chimici perfettamente simili a quelli dell'acido oleico che ha assorbito l'alogeno.* Frattanto ci impressionavano le interessanti indagini di *Drechsel* e *Howald* sul contenuto di I nei peli dopo la somministrazione di jodúro potassico: fu ottenuta una combinazione organica dell'alogeno,

che gli Autori ritennero probabilmente come acido dijodostearico e rispettivamente dijodoleina [1]. Ci sentimmo per ciò sempre più autorizzati a pensare che l'acido oleico, che ha assorbito I, attraversi l'organismo di questi animali, se non del tutto inalterato, almeno sempre sotto una forma che si avvicina a quella nella quale è stato introdotto [2].

È facile pensare che così ancora, e forse a più forte ragione, accada per l'acido dibromostearico: ma non ci è tuttavia riuscito averne la prova diretta: il che si deve alla scarsissima quantità di prodotto che abbiamo potuto ottenere anche da notevoli quantità d'orina (p. e. anche 10 litri per volta) e altresì dalle perdite di materiale durante il processo di estrazione, già descritto nei nostri lavori antecedenti. Non crediamo tuttavia, a dir vero, tenendo conto della perfetta somiglianza fra i due acidi grassi non saturi alogeno-sostituiti, d'aver bisogno d'altri fatti, oltre quelli raccolti fin qui, per ritenere che entrambi appaiano nell'orina sotto la medesima forma, la quale per entrambi ci rende spiegazione nitida della estrema lentezza con cui lo I e il Br, in tale maniera introdotti, abbandonano l'organismo.

Tutto quello che noi abbiamo già detto a proposito dello assorbimento, della distribuzione e della eliminazione del grasso bromato, ci porta per necessità a tornar sopra ad una questione, forse non ancora abbastanza studiata, quantunque non più nuova: *la ritenzione del Br nell'organismo.*

Per intenderci è necessario toccare almeno i punti principali.

*Féré* ed *Herbert*, partendo dall'osservazione di *Rabuteau*, il quale aveva potuto dimostrare tracce di Br anche dopo 3 settimane dalla propinazione di bromuro potassico, non sembrando loro d'altra parte bastevoli, e tanto meno esenti da critica, le ricerche di *Cazeneure* e *Doyon* e di *Wolf* [3] sull'ac-

---

(1) Vedi la nostra memoria del 1898, già citata.

(2) Vedi ancora per ciò la nostra memoria del 1896, già citata.

(3) *Cazeneuve* e *Doyon* nel cervello trovarono il 0,1289 %, e nel fegato 0,09 % di Br. — *Wolf* nel cervello 0,112 % e nel fegato e milza 0,0592 %. — Veggasi la memoria di *Féré* ed *Herbert* per notizie speciali: secondo questi Autori l'errore nel primo caso dipendeva sopratutto dalla presenza simulta-

cumulo di questo composto bromico nei tessuti, intrapresero delle esperienze in proposito, che formano soggetto di una serie di pubblicazioni, la prima di cui vide la luce nel 1891 (1). Sperimentando con un metodo, molto diverso dal nostro, e fondato sulla determinazione del Br, nella soluzione delle ceneri, con acqua di Cl recentemente titolata che veniva aggiunta al liquido da analizzare fino a quando una goccia di quella non produceva più colorazione gialla di questo, metodo che, per ragioni troppo facili a comprendersi, lascia molto a desiderare dal lato dell'esattezza, non fosse altro che per la difficoltà di ottenere un reattivo a titolo costante, e destinato a dare errori in più nella determinazione, osservarono che nel cervello e nel fegato di epilettici, assoggettati a cure bromiche, si aveva un accumulo, piuttosto notevole, dell'alogeno: così ad es. su gr. 1500 di encefalo trovarono gr. 3,48 di Br e su gr. 1350 di fegato gr. 3,72 di Br! Nei conigli, sottoposti all'uso del bromuro potassico, trovarono che il Br si accumula principalmente nel fegato.

Continuarono ed estesero le loro indagini (2): dall'analisi dei tessuti di due epilettici, che per lungo tempo avevano preso forti dosi di bromuro, ottennero la dimostrazione che non solo il Br si accumula nell'organismo, ma ancora che vi hanno organi che ne contengono più dei due precedentemente citati. Così per esempio in un caso mentre dal cervello ottennero gr. 0,09, dal fegato gr. 0,137, dal polmone ottennero gr. 0,156, dalla milza 0,21, dal rene gr. 0,216, dal solo sangue contenuto nel cuore gr. 0,27 di Br. Impiegando il bromuro di stronzio, sperimentalmente nei conigli, trovarono che il Br si localizzava nei vari tessuti, quasi come pel bromuro potassico (3).

---

nea di Cl (miscuglio di cloruro e bromuro di Ag), nel secondo dall'azione di prodotti nitrosi reagenti sul bromuro durante l'operazione.

(1) Ch. Féré et L. Herbert, *Note sur l'accumulation du Bromure de Potassium dans le cerveau et dans le foie.* (Compt. rend hebd. d. Séanc. et Memoir. d. la Soc. de Biologie, T. III, 9e Série, 1891, pag. 670). Vegg. in questa memoria la precedente letteratura scarsa.

(2) Ch. Féré et L. Herbert, *Note sur l'accumulation du Bromure de Potassium dans différents tissus.* (Ivi, p. 769).

(3) Ch. Féré et L. Herbert, *Recherches expérimentales sur l'accumulation du Bromure de strontium dans l'organisme.* (Ivi, 1892, p. 45).

In fine trovarono che fra i centri nervosi il cervelletto presenta una certa predisposizione all'accumulo del Br, somministrato in forma di bromuro potassico, in paragone di altre parti del sistema nervoso. Nel grasso addominale di un epilettico fortemente bromizzato, trovarono gr. 0,024 % di Br e nei capelli la ricerca riuscì negativa (1).

*Rosenthal* (2), indirettamente, nello studio del contegno biologico di combinazioni bromiche, osservò che anche il bromuro potassico può accumularsi nell'organismo, distribuendosi nei diversi organi, fra cui il rene, la milza, il cervello, il pancreas ed il fegato: anzi nel primo e nell'ultimo trovò la maggiore quantità di Br. Si trattava tuttavia sempre di proporzioni molto piccole; ed es. su gr. 100 di sostanza secca, per il rene trovò gr. 0,22, per il fegato gr. 0,16 di Br. Risultati quasi uguali ottenne somministrando una combinazione bromo-peptonica.

*Laudenheimer* (3) somministrava a giovani epilettici gr. 10 di bromuro sodico al giorno: dopo 8 giorni, di gr. 80 così somministrati, trovò che solo gr. 39 venivano eliminati, mentre gli altri 41 gr. erano stati ritenuti. Nel seguito però della cura, sembrò che in altra maniera andassero le cose: si sviluppò una specie di saturazione dell'organismo, e piano piano si giunse ad un punto in cui la quantità che entrava era uguale a quella che usciva. Nella ritenzione poi del Br, secondo questo Autore, oltre l'ampiezza della dose ha influenza anche un fattore che potrebbe dirsi individuale.

*Kunkel* (4) ha eseguito una serie di rigorose esperienze nel

---

(1) Ch. Féré et L. Herbert, Veggasi la seduta del 13 febbraio 1892. (Ivi, pag. 130).

(2) Rosenthal, *Versuche über die Vertheilung des Broms in Thierkörper nach Eingabe von Bromverbindungen.* (Zeitsch. f. physiol. Chemie, Bd. 22, p. 227).

(3) R. Laudenheimer, *Ueber das Verhalten des Bromsalze im Körper des Epipileptikers*, ecc. (Neurolog. Centralbl., 1897, n. 12; Deutsch. med. Woch. 1897, p. 98).

(4) Kunkel, *Ueber Bromretention in thierischen Organismus, bei Darreichung v. Bromalkalien.* (Sitzs-berich. der phys. med. Gesellsch., Würzburg, 1898; Jahresber. u. d. Leist. a. Fortschr. in d. gesamm. Med., 1898). — Può vedersi ancora: Fessel, *Ueber das Verhalten des Broms im Thierkörper.* (Münch. med. Woch., 1899, p. 1270).

cane e nel gatto allo scopo di stabilire in termini precisi, la ritenzione del Br, somministrato in forma di bromuro potassico in dosi crescenti. Osservò, e questo è notevole, che mentre il Br si trova sopratutto nel siero sanguigno, gli organi dissanguati ne contengono pochissimo [1].

Le proprietà chimico-fisiche ed il contegno biologico dell'acido dibromostearico, singolare e diverso in molti punti da quello delle combinazioni bromiche note, il suo carattere quasi di bromo alimentare che lo rende così omogeneo all'organismo al segno da rimanervi lungo tempo, ci persuasero a studiarlo ancora dal punto di vista del suo accumulo nei tessuti, in paragone sempre di quantità uguali di Br, amministrato per la medesima via e sotto forma di bromuro sodico.

Già nella parte di questo lavoro riguardante lo studio della distribuzione del grasso bromato nei tessuti e della eliminazione del Br, abbiamo più volte toccato dei punti che rientrano nel presente paragrafo, e dimostrano da un lato la tendenza dell'acido dibromostearico ad accumularsi nell'organismo, dall'altra la scarsa affinità che per il medesimo posseggono i tessuti nervoso ed epatico, specie in paragone del tessuto adiposo. Se si ha cura di uccidere gli animali per dissanguamento, come sembra dovrebbe esser fatto per uno studio di tal genere, si rileva sempre che tanto in seguito alla somministrazione d'un bromuro alcalino, quanto dell'acido dibromostearico, nell'encefalo non sono dimostrabili altro che tracce di Br. Ed in ciò i nostri risultati coincidono a perfezione con quelli di *Kunkel* e di *Albertoni*, i quali ultimi ci furono gentilmente partecipati. Ma, secondo il nostro modo di vedere, è necessario ancora, allo scopo di evitar causa d'errore grossolano, non prolungare troppo la somministrazione del preparato bromico: chè, se di questa cautela non si tien conto, non si rimane più, com'è facile intendere, entro i limiti d'una ricerca fisiologica, ma si penetra nel campo della tossicologia pura, scuoprendo magari dei fatti nuovi, però senza portare alcun contributo vero ed utile allo studio della normale distribuzione e ritenzione nei tessuti sani di un farmaco, che, come il bromo, non è scevro affatto di intensa azione sui medesimi. Queste cose ancora noi abbiamo creduto opportuno di tenere in considerazione nel praticare le esperienze di cui riportiamo i seguenti protocolli.

I. Due conigli sani e robusti, nelle medesime condizioni, ricevono in 5 giorni la medesima quantità di Br per via ipodermica: l'uno A. sotto

---

[1] Alla Scuola di Würzburg appartengono ancora due tesi su questo soggetto: O. Buchner, *Ueber die Retention von Bromsalzen im thierischen Organismus*, 1898. — I. Fell, *Schicksale der Bromsalze im thierischen Organismus*, 1888. (Jahresb. ü. d. Fortschr. d. Thier-Chemie, 1901).

forma di *bromuro sodico*, l'altro B. sotto quella di *grasso bromato*. Il risultato sperimentale si trova in questa tavola:

| Animale | Br introdotto | Orina esaminata | Orina eliminata in 5 giorni | Br eliminato trovato | Br totale eliminato | Br percentuale eliminato | *Osservazioni* |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | gr. | cc. | cc. | gr. | gr. | gr. | |
| A | 4,087 | 194 | 908 | 0,128 | 0,598 | 14,63 % | Aumento di gr. 70 di peso: durante l'esperienza è depresso, ha poco appetito, diarrea, lieve albuminuria. *Le feci contengono molto Br.* |
| B | 4,087 | 200 | 855 | traccia indeterminabile | ? | ? | Aumento di gr. 145 di peso: durante l'esperienza e dopo si mantiene in condizioni normali. |

In quest'esperienza [1] noi vediamo che circa il 14,63 % del Br introdotto, come bromuro sodico, viene eliminato; ma non è tutto questo il Br perduto, in quanto che l'esame delle feci dimostrò la presenza dell'alogeno anche in esse e in quantità non piccola: disgraziatamente non si potè su queste ultime praticare un'analisi diretta quantitativa Frattanto un altro fatto compare in scena: l'albuminuria lieve, al quarto giorno di somministrazione, nel coniglio A (bromuro sodico) la quale circostanza ci ammaestra nel valutare i risultati di esperienze simili troppo protratte o praticate con dosi troppo forti: il rene ammala, e non si può più parlare di eliminazione e tanto meno di ritenzione fisiologica di un farmaco nei tessuti! Ma se è in parte incompleta quest' esperienza, d'altro lato è molto dimostrativa nel paragone fra il bromuro sodico e l'acido dibromostearico, il cui Br, com'è chiaro, si elimina in proporzioni indeterminabili attraverso un rene del tutto normale, e per nulla o quasi attraverso la mucosa gastro-enterica. Benchè trattenuto nei tessuti, il Br non determina fenomeno tossico alcuno: ricordiamo tuttavia che la maggior parte di esso è in deposito in un tessuto di riserva ed inerte, come il tessuto connettivo adiposo.

Ma più completa e perfetta è quest' altra esperienza.

II. Due conigli bigi, adulti, robusti, di gr. 2000 l'uno, alimentati e

---

[1] L'orina esaminata venne prelevata dalla massa totale di orina secreta durante l'esperienza.

tenuti in identica maniera, dal 7 al 10 maggio 1901, ricevono per via ipodermica, nello stesso modo, nella stessa diluzione, la medesima quantità di Br, cioè gr. 5,3 per ciascuno: nel primo A. sotto forma di *bromuro sodico*, nel secondo B. sotto forma di *dibromostearina*. Dal 7 a tutto il 13 maggio si raccolgono orine e feci per la determinazione quantitativa del Br, avvertendo che dal termine dell'esperienza all'ultima somministrazione si è lasciato correre un intervallo discreto di tempo, cioè 3 giorni, allo scopo di raccogliere la maggiore quantità di Br eliminato.

I risultati sperimentali son raccolti nella tabella seguente: (1)

| Animale | Br introdotto | Orina secreta in 7 giorni | Feci (secche) esaminate | Feci (secche) raccolte in 7 giorni | Br totale eliminato coll'orina | Br totale eliminato colle feci | Br totale eliminato | Br percentuale eliminato | *Osservazioni* |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | gr. | cc. | gr. | gr. | gr. | gr | gr. | | |
| A | 5,3 | 1158 | 15 | 214 | 1,135 | 0,214 | 1,349 | 25,54 % | L'esperienza procede senza complicazioni: alla fine della medesima il peso è di gr. 2000. |
| B | 5,3 | 823 | 15 | 160 | 0,025 | traccia | 0,026 | 0,49 % | Idem. |

Aggiungere parole all'evidenza delle cifre riportate sarebbe opera vana.

Dunque il Br, introdotto sotto forma d'acido dibromostearico, ha straordinaria tendenza ad accumularsi nell'organismo: nelle nostre esperienze in fatti circa il 99,5 % vi rimane, ed abbiamo già veduto come e dove. Solo ricordiamo che, a parità di condizioni, il tessuto adiposo contiene la più forte quantità di alogeno: abbiamo p. e. in un caso potuto calcolare che il tessuto connettivo adiposo contiene una proporzione di Br circa 500 volte superiore a quella contenuta nel tessuto dei centri nervosi encefalici.

(1) Le feci esaminate vennero prelevate dalla massa totale di feci raccolte durante l'esperienza.

## Riepilogo.

Per quanto numerosi siano i fatti osservati, non riesce tuttavia difficile coordinarli, riassumerli e riferirli in forma semplice e breve con qualche commento.

Possiamo quindi affermare:

*a*) che il contegno fisiologico dell'acido dibromostearico, nelle linee generali, somiglia perfettamente a quello dell'acido dijodostearico.

*b*) che il grasso bromato può venire assorbito come tale, allo stato di finissima suddivisione e forse in parte ancora saponificato: l'assorbimento si compie per tutte le superficie assorbenti sperimentate (mucosa intestinale, connettivo sottocutaneo, sierosa peritoneale) essendo sempre lento, ma meno per la prima che per le altre due.

*c*) che si deposita sopratutto nei magazzini naturali di grasso dell'organismo ove rimane sempre per lungo tempo.

*d*) che si elimina con straordinaria lentezza e in quantità molto tenue attraverso il rene e la mucosa gastro-enterica.

*e*) che la maggior parte del Br eliminato è in forma di combinazione organica simile, se non identica, a quella dell'acido dibromostearico, mentre solo tenui quantità di Br appaiono in forma di combinazione minerale.

*f*) che la lentezza dell'eliminazione del grasso bromato, rispettivamente la sua maniera di distribuzione nell'organismo e la sua tendenza ad accumularvisi, dipendono prima di tutto dalle sue proprietà chimico-fisiche.

*g*) che l'acido dibromostearico offre di fronte ai processi bio-chimici una resistenza molto superiore a quella del corrispondente acido dijodostearico, e specialmente cloro-jodostearico. Tale maggior resistenza si manifesta riguardo all'alcalinità del mezzo, agli enzimi digerenti, specie alla steapsina, ai bacterî intestinali, ed anche di fronte ai meccanismi in virtù di cui il grasso si distrugge e si consuma (processi d'os-

sidazione, fermenti lipolitici): l'alogeno non si rende libero dalla molecola dell'acido grasso altro che quando questa viene distrutta.

L'ipotesi da noi espressa, in base a ricerche sperimentali, nel 1897 (1) e più tardi, presso a poco tal quale accettata da *Winternitz* (2) per spiegare la resistenza parziale della molecola del grasso jodato verso i processi di ossidazione, cioè che mentre gli strati periferici della sferula grassosa son colpiti, vengono rispiarmati quelli centrali, si può applicare anche al grasso bromato, ma non basta a dimostrarne la superiorità.

*h*) la ragione della maggior resistenza della molecola dell'acido dibromostearico, in paragone di quella dei due corrispondenti acidi alogeno-sostituiti sopra citati, deve ricercarsi in gran parte nella maggiore stabilità dei composti del Br in paragone di quelli dello I, così dal lato chimico come da quello biologico.

*i*) in questa singolare resistenza della molecola a liberare l'alogeno, sta il motivo dell'altrettanto singolare tolleranza dell'organismo rispetto al grasso bromato, il quale con ragione, può chiamarsi una vera e propria forma di *bromo alimentare*.

*l*) sotto l'influenza del medesimo gli animali possono ingrassare e non dimagrano mai, salvo rare eccezioni. Quest'ultimo fatto non può spiegarsi, come si è pensato e forse con ragione a riguardo dei grassi jodati, cioè quale un effetto dell'azione propria dell'alogeno liberatosi sul ricambio organico (distruzione del grasso corporeo, perdita di acqua ecc.): perchè, a proposito del grasso bromato, parlano contro questa spiegazione tutti i risultati delle ricerche biologiche sopra riferite, e la regolare ed assoluta mancanza di sintomi caratteristici di bromismo, anche dopo l'uso prolungato di forti dosi di acido dibromostearico.

---

(1) G. Coronedi, *Nuove ricerche chimico-fisiologiche sui grassi.* (Atti dell'Accademia med. fis. fiorentina, 1897).

(2) H. Winternitz, *Ueber Jodfette und ihr Verhalten im Organismus*, ecc. (Hoppe-Seyler's Zeitsch. f. physiol. Chemie, Bd. XXIV, 1898).

Se in qualche esperienza relativa a conigli, specie giovani, abbiamo osservato una diminuzione di peso, ciò va ascritto alla circostanza che noi li sottoponevamo ad un' alimentazione poco adatta al loro prosperare, ma d'altra parte conveniente alle ricerche chimico-fisiologiche da noi praticate sulle orine, cioè l'alimentazione di crusca: e già altrove abbiamo reso ragione di questo nostro metodo di procedere. Infatti nel cane, in cui potevamo introdurre il grasso bromato insieme al vitto abituale, la diminuzione di peso non si è mai verificata, ad eccezione del caso in cui si impieghino dosi eccessive, nella quale circostanza compaiono sintomi di dispepsia, sopratutto gastrica, rappresentanti la causa essenziale del dimagramento. E si noti tuttavia che questi fenomeni dispeptici vanno attribuiti più al grasso come grasso che al Br in esso contenuto. A riprova sta l'altro fatto singolare che, quando si proceda colle dovute regole, si osserva l' aumento del peso corporeo in seguito all' alimentazione col grasso bromato, anche quando per motivi estranei, questo non sarebbe stato prevedibile affatto.

*m*) l' acido dibromostearico, pure essendo così bene tollerato per lungo tempo ed in forti dosi, determina l' azione farmacoterapeutica caratteristica del Br e dei suoi composti tutti.

*n*) i grassi bromati, come dimostrammo e dicemmo a proposito dei grassi jodati (vedi questi) rappresentano un mezzo sicuro, pratico per la ricerca del contegno fisiologico dei grassi in generale.

Sassari - Firenze, febbraio del 1902.

Laboratorio di Patologia Generale della R. Università di Cagliari.

# ALTERAZIONI ISTOLOGICHE

## PROVOCATE DA SOLUZIONI METALLICHE COLLOIDI

### O ELETTROLITICAMENTE DISSOCIATE.

**PROF. G. GALEOTTI** E **C. TODDE**, Studente di Medicina.

Numerosissime son certo le ricerche che riguardano le alterazioni istologiche provocate negli organi di diversi animali, mediante intossicazioni con sali metallici. Ma in queste i sali vennero generalmente introdotti in uno stato di più o meno avanzata dissociazione elettrolitica.

Invece nelle presenti ricerche abbiamo introdotto negli animali da esperimento certi metalli non sotto la forma di ioni, ma di masse piccolissime, elettricamente inattive, quali si trovano nelle cosidette soluzioni metalliche colloidi, che si preparano secondo un metodo ormai ben conosciuto.

Queste pseudo-soluzioni metalliche hanno, come è noto, proprietà stechiometriche e chimiche assolutamente diverse da quelle di corrispondenti soluzioni elettrolitiche, che pure contengano un egual peso di metallo, e tal fatto ci ha spinto a ricercare se esse possedessero anche differenti proprietà fisiologiche. Su questo argomento sono state già pubblicate da uno di noi alcune ricerche preliminari, per le quali l'ipotesi di un diverso comportamento nelle due specie di soluzioni di uno stesso metallo, ha acquistato già una certa base sperimentale [1].

[1] GALEOTTI, *Ueber die Wirkung kolloidaler und elektrolytisch dissoziierter Metalllösungen auf die Zellen.* (Biologisches Centralblatt, Vol. XXI, N. 11, 1901).

Tali ricerche sono state fatte trattando gli animali da esperimento (cavie) con queste soluzioni colloidi, iniettate nel peritoneo. In alcuni casi abbiamo fatto esperienze di confronto su animali di egual peso, trattandoli con soluzioni di un sale del metallo stesso con cui avevamo fatto le soluzioni colloidi: queste soluzioni contenevano un egual peso di metallo. Naturalmente si facevano le iniezioni negli stessi giorni, con eguali quantità di liquido.

I metalli adoperati sono stati:

Pt, Au, Ag, Mo, Cu, Co.

Esperienze di confronto sono state fatte per riguardo ai tre metalli Pt, Ag, Cu, e precisamente con i sali:

$PtCl^4$, $NO^3Ag$, $CuSO^4$.

## Preparazione delle soluzioni colloidi.

Il metodo adoperato è quello di *Bredig* (1), che consiste nel far scoccare l'arco voltaico fra due elottrodi costruiti col metallo, di cui si vuole ottenere la soluzione e mantenuti immersi in un'acqua quasi priva di elettroliti.

Abbiamo ottenuto un'acqua sufficientemente pura mediante due distillazioni, una volta in presenza di $H^2SO^4$ e di $KMnO^4$ ed una volta in presenza di KOH. Il $CO^2$ che poteva essere contenuto nel prodotto della distillazione veniva scacciato per mezzo di una corrente d'aria convenientemente purificata.

L'arco voltaico necessario alla polverizzazione degli elettrodi metallici era prodotto da una corrente di circa 25 Amp., sotto un potenziale di 100 Volt.

Le soluzioni ottenute in tal modo venivano poi fatte passare per un filtro accuratamente lavato, e si conservavano in bottiglie ben chiuse. È noto che la presenza di piccole quantità di elettroliti fa rapidamente precipitare il metallo,

(1) Bredig, *Physikalische Zeitschrift*, vol. II. — Bredig und Müller von Berneck, *Zeitschrift für physikalische Chemie*, vol. XXXI, pag. 258.

e ciò infatti ci è qualche volta accaduto, in ispecie per le soluzioni di Cu e di Co che sono delicatissime. Allora abbiamo dovuto gettar via tutta la soluzione e prepararne nuove quantità.

Le soluzioni di Au, di Pt e di Ag sono molto più durature, e ancor oggi possediamo alcune bottiglie di soluzioni che furono fatte circa 17 mesi fa. In ogni caso abbiamo soltanto adoperato soluzioni perfettamente limpide.

La determinazione del contenuto metallico di queste soluzioni si faceva assai semplicemente, facendone evaporare una determinata quantità in una capsulina pesata, e pesando poi di nuovo dopo adatto essicamento. Ogni volta abbiamo fatto 3 o 4 di queste determinazioni e abbiam preso la loro media come termine fisso.

Le soluzioni saline con contenuto metallico eguale a quello delle corrispondenti soluzioni colloidi sono state fatte partendo da soluzioni concentrate, ottenute per pesata e facendo poi le adatte diluizioni.

Con queste varie soluzioni abbiamo trattato alcune cavie, iniettando loro i liquidi nella cavità peritoneale.

Abbiamo poi tenuto conto delle variazioni di peso di questi animali, e quindi, dopo 4-6 settimane di trattamento, essendo le cavie venute spontaneamente a morte, o avendole sacrificate in uno stato assai avanzato di deperimento, a fine di aver i visceri freschissimi, abbiamo fissato in sublimato od in liquido di Flemming gli organi, che macroscopicamente sembravano aver più risentito la influenza delle sostanze iniettate.

I metodi di colorazione usati sono stati quelli della ematossilina e eosina per i pezzi fissati in sublimato, della safranina per i pezzi fissati in Flemming.

## Descrizione delle esperienze.

### I.

### Platino.

CAVIA I. — Trattata con soluzione di Pt colloide.
CAVIA II. — Trattata con soluzione di $PtCl^4$.
} Contenuto in Pt delle due soluzioni: gr. 0,22 per litro.

| Giorni | Peso | | Iniezioni |
|---|---|---|---|
| | Cavia I | Cavia II | |
| 4 Febbraio 1901..... | 549 | 550 | 2 cc. |
| 8 » » ..... | 499 | 552 | 2 » |
| 12 » » ..... | 430 | 560 | 2 » |
| 16 » » ..... | 478 | 558 | 2 ½ cc. |
| 20 » » ..... | 425 | 556 | 3 cc. |
| 25 » » ..... | 390 | 510 | 5 » |
| 28 » » ..... | 398 | 495 | 7 » |
| 3 Marzo » ..... | 402 | 490 | 9 » |
| 15 » » ..... | 386 | 494 | 11 » |
| 30 » » ..... | 374 | 490 | 20 » |

*Cavia I.* — Si uccide il 10 Aprile 1901. È assai dimagrata. Gli organi appaiono rimpiccoliti, ma non presentano alterazioni rilevanti, salvo che degli infarti nei lobi inferiori dei polmoni. L'epiploon è fortemente pigmentato.

*Cavia II.* — Si uccide il 9 Aprile. Alla necroscopia non si riscontrano alterazioni considerevoli.

### *Reperti istologici.*

#### RENE.

*Cavia I.* — L'aspetto generale del rene sta ad indicare un considerevole grado di atrofia dell'organo. I canalicoli sono afflosciati ed in

collasso. I nuclei presentano spesso fatti di cariorexi. Non vi ha infiltrazione leucocitaria, nè nel connettivo, nè nei glomeruli. Il citoplasma di tutti gli epitelii è rarefatto, poco colorabile, a limiti non netti. In alcuni punti i canalicoli contengono un detrito, risultante da distruzione del citoplasma. Molti nuclei sono ingrossati e appaiono chiari e vuoti, altri invece, pure ingrossati, sono pieni di masse cromatiche rigonfie (ipercromatosi del nucleo). In altri punti si trovano nuclei totalmente picnotici. Non vi è degenerazione grassa.

*Cavia II.* — Infiltrazione leucocitaria interstiziale e dei glomeruli; leggera degenerazione ialina in qualche punto del connettivo e dei glomeruli. In qualche glomerulo si vede che tutta una zona periferica si è trasformata in una massa compatta di sostanza ialina. Negli epiteli canalicolari osserviamo rarefazione del citoplasma, degenerazione vacuolare, frequenti fatti di cariorexi. Nell'insieme i reni non sono molto alterati. Nei preparati fissati in Flemming si vede degenerazione grassa incipiente e piccole goccie di grasso negli interstizi. Mancano fatti di pigmentazione.

## Fegato.

*Cavia I.* — Non è più evidente la struttura lobulare dell'organo, perchè le cellule appaiono molto fittamente disposte. Non v'è infiltrazione leucocitaria, però vi è considerevole degenerazione ialina delle trabecole connettivali e delle pareti dei vasi più grossi. Tutto il parenchima del fegato è cosparso di masse rotondeggianti di diversa grandezza (da 1 $\mu$ al diametro di un nucleo di cellula epatica) di colorito giallo bruno. Alcune di queste stanno fra le cellule, altre dentro le cellule stesse ed in vicinanza dei nuclei. Alcune cellule sono tutte piene di questi depositi. Tali masse abbondano anche nel connettivo periportale e nel contenuto dei vasi portali medesimi. Le cellule epiteliali appaiono un po' rimpiccolite, il citoplasma è chiaro, in certi punti poco colorabile, con scarse granulazioni. Molti nuclei son rotti ed altri picnotici.

*Cavia II.* — Infiltrazione leucocitaria degli spazi triangolari ed anche intralobulari. Leggero grado di degenerazione ialina del connettivo periportale. Epiteli non alterati. Non vi è degenerazione grassa.

## Polmone.

*Cavia I.* — In estese porzioni del parenchima gli alveoli, moderatamente distesi, sono ripieni d'un essudato costituito in gran parte di corpuscoli rossi. Negli interstizi interalveolari si notano raggruppamenti di leucociti; gli epitelî alveolari sono appiattiti, qualche volta in via di esfoliazione ed hanno il nucleo in cariorexi o talvolta picnotico. In altri punti si ha un'enfisema considerevole, con grande dilatazione degli alveoli; le pareti di questi sono ridotte sottilissime ed in alcuni punti rotte. Anche in queste regioni del polmone è evidente il rimpic-

colimento delle cellule, e si hanno pure alterazioni nucleari dei soliti tipi. Non si riscontrano depositi pigmentari.

*Cavia II.* — Polmoni normali, soltanto alcuni epitelî si mostrano infiltrati di piccolissimi granuli di pigmento.

## Milza.

*Cavia I.* — Non si riscontrano alterazioni citologiche considerevoli, ma si hanno solo fatti di pigmentazione eguali a quelli sopra descritti. Anche le masse di pigmento hanno l'aspetto già ricordato.

*Cavia II.* — Abbondanti e grosse masse di pigmento giallo-bruno in parte inglobate dai leucociti, in parte libere tra essi. Anche nella capsula fibrosa si riscontrano queste pigmentazioni. Alcuni leucociti, carichi di piccoli granuli, sono in via di distruzione e si vede che i granuli di pigmento che si liberano dai leucociti tendono a raggrupparsi, cementandosi insieme in masse più grandi. Queste masse pigmentate hanno un colore giallo-bruno, e un aspetto veramente metallico.

## Intestino.

*Cavia I.* — Infiltrazione leucocitaria del connettivo sottomucoso dei villi. Gli epitelî hanno citoplasma molto chiaro, in certi punti un poco rigonfio, in modo che il lume ghiandolare è scomparso. In altri tubi ghiandolari vi è disfacimento granulare degli epitelî. Qualche figura cariocinetica nel fondo dei tubi ghiandolari; in queste figure cariocinetiche i cromosomi appaiono come fusi tra loro, in modo che la figura cromatica ha l'aspetto d'una zolla composta di sostanza granulare. Mentre si riscontrano con frequenza le fasi della stella madre, sono rarissimi i diaster, il che forse sta a significare che questi processi cariocinetici non sono capaci di giungere a termine. Predominano le solite alterazioni dei nuclei e cioè picnosi, ipercromatosi e cariorexi.

*Cavia II.* — In qualche punto vi è infiltrazione leucocitaria della sottomucosa ed anche del connettivo di sostegno dei villi. La mucosa è in certo grado atrofica ed in qualche punto gli epitelî sono in via di disfacimento. Infiltrazione pigmentaria in alcuni epitelî, si vedono pochissimi granuli scuri entro il citoplasma, disposti intorno al nucleo. Anche nella sierosa si hanno queste infiltrazioni ed ancora più abbondanti esse sono nella muscolare e quivi i granuli sono ora dentro le fibre, disposti tra i fasci di fibrille ed allora sono piccolissimi ora tra le fibrocellule stesse ed allora appaiono più grandi.

## Cuore.

*Cavia I.* — Le fibre muscolari appaiono assai diradate e impiccolite. In alcuni punti sono ridotte a sottili e lievi striscie o a frammenti ir-

regolari. La sostanza delle fibre stesse è poco colorabile e non vi si può vedere affatto la doppia striatura. Si ha insomma il quadro di una avanzata atrofia del miocardio. Non v'è però degenerazione grassa. I nuclei sono pure molto alterati, hanno perduto la forma rotonda e sono raggrinzati ed angolosi. In alcuni punti hanno subìto la trasformazione picnotica, in altri son ridotti a bastoncini contorti che presentano delle spezzature.

*Cavia II.* — Non vi si riscontrano alterazioni istologiche.

### Capsule surrenali.

*Cavia I.* — Si riscontra anche qui un processo di atrofia delle cellule ed in alcuni punti disfacimento granulare. Solite alterazioni nucleari.

*Cavia II.* — Non si riscontrano alterazioni.

Cavia III — Trattata con la soluzione di Pt colloide (gr. 0,36 di Pt per litro).

| Giorni | Peso | Iniezioni |
|---|---|---|
| 31 Ottobre 1900... ... | 438 | 2 cc. |
| 2 Novembre » .... | 422 | 2 » |
| 5 » » .... | 385 | 2 » |
| 7 » » .... | 376 | 2 » |
| 10 » » .... | 419 | 2 » |
| 15 » » .... | 382 | 2 » |
| 17 » » ... | 382 | 4 » |
| 21 » » .... | 335 | 4 » |
| 24 » » .... | 305 | muore. |

*Necroscopia.* — Stato di marasmo. Il peritoneo è da per tutto opacato; l'omento ricco di pigmento scuro. Fegato da stasi. Polmoni ricchi di infarti. Il cuore flaccido, dilatato, con pareti assottigliate, contiene coaguli. Reni impiccoliti, pigmentati.

### *Reperto microscopico.*

Rene. — Molti canalicoli sono in collasso e schiacciati: alcuni contengono detriti protoplasmatici. Gli epitelî sono rimpiccoliti con citopla-

sma chiaro, talvolta vacuolizzato, a confini poco netti. Mancano infiltrazioni leucocitarie e degenerazione grassa. I nuclei talvolta sono ipercromatici o picnotici, spesso son rotti e la sostanza nucleare sparsa all'intorno.

Fegato. — I cordoni delle cellule epatiche sono assottigliati e lasciano spazi piuttosto ampi tra loro. Citoplasmi chiari, rarefatti: nuclei talvolta picnotici, talvolta rigonfiati e rotti. Grosse zolle di una sostanza giallo-scura si trovano tra le cellule o anche dentro il citoplasma.

Polmone — In alcuni punti si ha il reperto degli infarti; in altri gli alveoli sono ingranditi e le pareti di essi assottigliate. In alcuni vasi si trovano frammiste al sangue delle cellule grandi a citoplasma ben colorabile con l'eosina, le quali si debbon verosimilmente considerare come cellule epatiche.

Milza. — Si notano soltanto numerose e grandi masse del solito pigmento giallo bruno, situato tra le cellule o anche dentro ai leucociti.

Cuore. — Fibre diradate, impiccolite, talvolta frammentate, con nuclei piuttosto alterati.

## II.

### Oro.

Cavia IV. — Trattata con soluzione di Au colloide (gr. 0,35 di Au per litro).

| Giorni | Peso | Iniezioni |
|---|---|---|
| 4 Febbraio 1901..... | 400 | 4 cc. |
| 8 » » ..... | 382 | 4 » |
| 12 » » ..... | 390 | 4 » |
| 16 » » ..... | 373 | 4 1/2 cc. |
| 20 » » ..... | 365 | 5 cc. |
| 25 » » ..... | 330 | 7 » |
| 28 » » ..... | 318 | 9 » |
| 9 Marzo » ..... | 322 | 11 » |
| 15 » » ..... | 320 | 13 » |
| 20 » » ..... | 305 | 16 » |

Si uccide il 24 Marzo. L'animale è in uno stato notevole di deperimento.

*Necroscopia.* — Peritoneo opacato e pigmentato. Aderenze viscerali. Intestini e polmoni pigmentati. Cuore flaccido. Reni molli, impiccoliti.

*Reperto istologico.*

RENE — Leggera infiltrazione in alcuni punti del laberinto e in certi glomeruli. Un leggero grado di atrofia negli epitelî canalicolari. I loro citoplasmi sono impiccoliti e rarefatti e in alcuni punti mostrano vacuoli e sfrangiamenti. Talvolta il processo atrofico dei citoplasmi è così avanzato che i nuclei dei vari epitelî d'un canalicolo vengono a contatto fra di loro; spesso i canalicoli stessi appaiono come raggrinzati e lasciano tra loro spazi riempiti da un connettivo molto lasso. Molti nuclei sono picnotici, altri rigonfi od in cariorexi. Leggere pigmentazioni della capsula del *Bowman*, di cui la membrana epiteliale è talvolta infiltrata di piccoli granuli scuri.

FEGATO. — A piccolo ingrandimento non si riscontrano alterazioni degne di nota. A forte ingrandimento si può apprezzare una certa atrofia delle cellule epatiche e le solite alterazioni nucleari, consistenti specialmente in processi picnotici, rigonfiamento e cariorexi.

POLMONE. — Il parenchima polmonare è in massima parte permeabile. Si hanno però delle piccole aree colle alterazioni caratteristiche degli infarti.

MILZA. - In questa è da notarsi soltanto una considerevole infiltrazione per opera di numerosissimi granuli scuri che si trovano nell'interno dei leucociti.

CUORE. — Le fibre appaiono in generale rimpiccolite ed in alcuni punti frammentate. Non si hanno fatti di pigmentazione.

INTESTINO. — Infiltrazione leucocitaria sotto-sierosa, della muscolare e del connettivo di sostegno dei villi. Le cellule epiteliali sono più piccole del normale. L'orletto che in esse normalmente si trova è ridotto sottilissimo.

CAPSULE SURRENALI.— Nella sostanza midollare le cellule appaiono un po' discoste tra loro, chiare, a margini netti, spesso vacuolizzate. I nuclei in generale sono rigonfi e con scarso contenuto cromatico. Nella sostanza corticale invece le cellule sono rimpiccolite, i nuclei appaiono più fitti e spesso picnotici.

CAVIA V. — Trattata con soluzione colloide di Au (gr. 0,30 per litro).

| Giorni | Peso | Iniezioni |
|---|---|---|
| 2 Novembre 1900..... | 495 | 2 cc. |
| 5 » » ..... | 445 | 2 » |
| 7 » » ..... | 438 | 2 » |
| 10 » » ..... | 455 | 2 » |
| 15 » » ..... | 423 | 2 » |
| 21 » » ..... | 412 | 4 » |
| 26 » » ..... | 360 | 8 » |

Muore il 28 Novembre. Peso gr. 324.

*Necroscopia.* — Marasmo assai avanzato. Peritoneo normale, salvo qualche aderenza. Epiploon pigmentato. Visceri flaccidi. Fegato da stasi. Infarti polmonari.

### *Reperto istologico.*

RENE. — Epitel? canalicolari atrofici, vacuolizzati, talvolta distaccati dalla membrana propria. Alterazioni nucleari eguali a quelle già più volte descritte. Scarse pigmentazioni perivascolari e nella capsula del *Bowman.*

FEGATO. — Le solite alterazioni atrofiche. Pigmentazioni considerevoli sotto forma di depositi di grossi granuli giallo-scuri.

POLMONE. — In alcuni punti gli alveoli sono riempiti di un essudato emorragico, in altri si ha dilatazione di essi. Pigmentazioni sottopleurali.

MILZA. — Pigmentazioni intra ed extracellulari.

CUORE. — Le fibre appaiono atrofiche e talvolta frammentate. I nuclei sono spesso picnotici.

## III.

### Argento.

CAVIA VI. — Trattata con soluzione colloide di Ag. } Contenuto in Ag:
CAVIA VII. — Trattata con soluzione di $AgNO^3$. } gr. 0,28 per litro.

| Giorni | Peso | | Iniezioni |
|---|---|---|---|
| | Cavia VI | Cavia VII | |
| 4 Febbraio 1901 | 655 | 710 | 1 cc. |
| 8 » ..... | 618 | 708 | 1 ½ » |
| 12 » ..... | 618 | 700 | 1 ½ » |
| 16 » ..... | 554 | 578 | 2 cc. |
| 20 » ..... | 520 | 580 | 2 ½ » |
| 25 » ..... | 505 | 535 | 4 ½ » |
| 1 Marzo ..... | 503 | 520 | 6 ½ » |
| 9 » ..... | 468 | 495 | 8 ½ » |

La cavia VI muore il 20 Marzo.

*Necroscopia.* — Pigmentazioni e qualche aderenza nel peritoneo. Cuore flaccido. Polmoni con infarti. Fegato da stasi. Reni impiccoliti.

La cavia VII muore il 10 Marzo.

*Necroscopia.* Liquido sieroso nella cavità addominale. Intestino pigmentato. Fegato spappolabile. Polmoni assai pigmentati.

## *Reperti istologici.*

### Rene.

*Cavia VI.* — Non si riscontrano alterazioni circolatorie. Gli epitelî canalicolari mostrano una considerevole rarefazione del citoplasma ed un leggero grado di atrofia, per cui essi appaiono più piccoli. I canalicoli sono afflosciati e i nuclei appaiono fittamente disposti. Le alterazioni principali dei nuclei consistono in ipercromatosi e cariorexi: alcuni nuclei appaiono molto rigonfi e pieni di masse cromatiche di diversa grandezza: in altri la membrana cromatica si è rotta, e le masse cromatiche fuoriuscite son sparse per il citoplasma ed anche fuori della cellula. Altri nuclei sono compatti e intensamente colorati. In alcuni punti l'atrofia del citoplasma è massima ed i canalicoli son ridotti ad ammassi di nuclei intensamente colorati, fittamente disposti. Non si riscontrano fatti di degenerazione grassa o ialina. Non si vedono neppure pigmentazioni.

*Cavia VII.* — Predominano le lesioni circolatorie e la infiltrazione interstiziale di corpuscoli rossi nei glomeruli e negli spazii perivascolari. I vasi son dilatati. Negli epitelî canalicolari vi è rigonfiamento torbido evidentissimo ed incipiente degenerazione grassa. Distacco degli epitelî dalla parete canalicolare, formazione di cilindri granulosi, depositi di pigmento giallo-scuro in forma di aghi e di granuli. Alcuni canalicoli sono trasformati in zone circolari di masse pigmentate, in cui si vedono ancora nuclei degenerati, leggermente colorati in rosa. In alcuni si hanno grosse masse di pigmento scuro.

### Fegato.

*Cavia VI.* — Vene dilatate e piene di sangue, non si distinguono più le divisioni dei lobuli. Nell'insieme l'aspetto è quello di un organo atrofico. Cellule epatiche considerevolmente atrofiche con limiti mal definiti; citoplasma rarefatto, senza granuli, con scarsa produzione di pigmento: in alcuni punti i citoplasmi son fusi insieme ed i nuclei addossati. Le alterazioni nucleari sono considerevoli, e del tipo della ipercromatosi e della cariorexi come si è visto per il rene. Non vi è degenerazione grassa.

*Cavia VII.* — Si vedono bene i confini dei singoli acini epatici; il connettivo interstiziale è in qualche punto aumentato: degenerazione ia-

lina negli spazî triangolari, vasi dilatati, infiltrazione piuttosto abbondante di corpuscoli rossi. Le cellule epiteliali sono un po' rigonfie, granulose, vi è leggera degenerazione grassa; in molti punti degenerazione vacuolare, pigmentazione delle pareti di certi capillari. Si riscontra anche una infiltrazione pigmentaria dei protoplasmi cellulari sotto l'aspetto di depositi di granuli gialli. In alcuni punti è principalmente il nucleo che ha subìto l'infiltrazione e si vedono in esso dei granuli o degli aghi, disposti intorno alle masse cromatiche o concrezioni più granulose che costituiscono tutta la massa cromatica. In alcuni punti si ha distruzione di gruppi di cellule ed al loro posto restano delle aree costituite da una trama pigmentata. Man mano che si distruggono le cellule restano le parti infiltrate di pigmenti.

## Polmone.

*Cavia VI.* — Infiltrazioni di corpuscoli rossi: in alcuni punti si ha l'aspetto del polmone epatizzato, in altri c'è un leggiero grado di enfisema ed atrofia di alcune pareti alveolari. Leucociti pigmentati e granuli di pigmento anche negli epitelî delle pareti alveolari.

*Cavia VII.* — Si nota la presenza di leucociti contenenti molto pigmento e granuli di pigmento minutissimi sono anche disposti in serie nelle pareti degli alveoli e negli spazi peribronchiali.

## Milza.

*Cavia VI.* — Ha i caratteri della milza da stasi. I corpuscoli malpighiani sono ingrossati e presentano abbondantissima infiltrazione di leucociti, la capsula connettivale è leggermente iperplastica. I leucociti hanno tutti un nucleo intensamente colorabile. Talvolta si vedono grandi nuclei ipercromatici. Abbondante disfacimento di corpuscoli rossi. Fatti di cariorexi assai frequenti; masse di pigmento giallo abbondante. Si vedono anche leucociti carichi di granuli neri.

*Cavia VII.* — Son da notarsi pigmentazioni per opera di granuli assai piccoli nella capsula e nelle trabecole connettivali.

## Intestino.

*Cavia VI.* — Leggera iperplasia del connettivo sottosieroso. I due strati delle fibre muscolari sono assai diminuiti di spessore. Le singole fibre appaiono impiccolite, specialmente nel loro diametro trasverso, in molti punti pigmentate, cosparse di granuli scuri. Non c'è infiltrazione nella sottomucosa e nel connettivo dei villi. Questo appare lasso

e come edematoso. Atrofia considerevole di tutta la mucosa; gli epiteli sono impiccoliti e molti si trovano in via di disfacimento. Frequentissima è la cariorexi. Alcuni tubi ghiandolari sono pieni di un detrito, risultante da residui della distruzione del citoplasma e da masse cromatiche, piccolissime, provenienti dai nuclei distrutti.

*Cavia VII.* - Infiltrazione leucocitaria nella sottomucosa e nel connettivo dei villi. Follicoli assai ingrossati e ricchi di leucociti. Pigmentazione abbondante nella sierosa. La sierosa è costituita da parecchi strati di cellule fusiformi e stellate, ricche di granuli di pigmento giallo e questi si ritrovano talvolta anche dentro i nuclei. Proliferazione di cellule connettivali nella vascolare (specialmente nello strato delle fibre circolari). La mucosa è sempre normale, eccettuata l'infiltrazione del connettivo dei villi.

## Cuore.

*Cavia VI.* — Le fibre appaiono come rarefatte e sono considerevolmente impiccolite. La striatura è poco evidente e in alcuni punti non si distingue più. Qualche focolaio d'infiltrazione leucocitaria. Si vedono anche leucociti carichi di pigmento. In alcuni punti periferici del miocardio anche le fibre muscolari stesse contengono dei granuli scuri. Nel pericardio non si trovano pigmentazioni.

*Cavia VII.* -- Non si riscontrano alterazioni nella struttura del cuore. Leggera pigmentazione del pericardio con granuli piccolissimi.

## Capsule surrenali.

*Cavia VI.* — Nella sostanza midollare le cellule sono impiccolite a margini non più netti ed in qualche parte appaiono fuse insieme. Processi di vacuolizzazione considerevole ed in qualche punto anche disfacimento granulare. I nuclei sono talvolta rigonfi e spesso presentano fenomeni di cariorexi.

## IV.

### Molibdeno.

CAVIA VIII. — Trattata con soluzione colloide di Mo (gr. 0,22 per litro).

| Giorni | Peso | Iniezioni |
|---|---|---|
| 4 Febbraio 1901..... | 571 | 2 cc. |
| 8 » » ..... | 547 | 3 » |
| 12 » » ..... | 580 | 3 » |
| 16 » » ..... | 578 | 3 1/2 cc. |
| 20 » » ..... | 537 | 4 cc. |
| 25 » » ..... | 505 | 6 » |
| 1 Marzo » ..... | 530 | 8 » |
| 9 » » ..... | 485 | 10 » |
| 15 » » ..... | 454 | 12 » |
| 20 » » ..... | 465 | 15 » |

Si uccide il 29 Marzo. È molto dimagrata. Nulla di notevole alla necroscopia, eccetto una considerevole flaccidezza dei visceri e aderenze e pigmentazioni nel peritoneo.

*Reperto istologico.*

RENE. — Leggero rigonfiamento torbido di molti elementi epiteliali, dimodochè alcuni canalicoli sono completamente otturati: più raramente si riscontrano fenomeni di incipiente necrosi cellulare, caratterizzati da distacco degli epitelî e dalla presenza di cilindri jalini entro i canalicoli privi di rivestimento epiteliale. Nei glomeruli non si hanno lesioni considerevoli, nè alterazioni circolatorie.

FEGATO. — Anche in questo si nota un certo grado di rigonfiamento torbido. Le cellule epiteliali stanno fra loro compatte, non si distinguono i limiti dei singoli elementi, nè più si vedono gli spazi intercellulari. I nuclei pure sono in genere rigonfi e spesso si ritrovano fatti di cariorexi. Leggero grado di degenerazione grassa.

POLMONE. — Nel polmone l'unica anomalia consiste nella presenza di numerose cellule ricche di granuli scuri.

MILZA. — Anche in questa è da notarsi soltanto una considerevole pigmentazione. Molti leucociti sono carichi di granuli scuri o giallastri.

CUORE. — Rigonfiamento torbido delle fibre, nelle quali la striatura non è più bene evidente. Nuclei angolosi, talvolta picnotici.

INTESTINO. — Nell'intestino troviamo soltanto una leggera infiltrazione leucocitaria della sottosierosa, unitamente ad un certo grado di pigmentazione.

CAPSULE SURRENALI. — Nella sostanza midollare le cellule sono un po' rigonfie, prive di vacuoli e in alcuni punti hanno anche subito il disfacimento granulare.

## V.

### Rame.

CAVIA IX. — Trattata con soluzione colloide di Cu. } Contenuto in Cu:
CAVIA X e XI. — Trattate con soluzione di $CuSO^4$. } gr. 0,38 per litro.

**Cavia IX**

| Giorni | Peso | Iniezioni |
|---|---|---|
| 4 Febbraio. | 315 | 2 cc. |
| 8 » | 314 | 1 1/2 » |
| 12 » | 300 | 1 1/2 » |
| 16 » | 316 | 2 » |
| 20 » | 315 | 2 1/2 » |
| 25 » | 340 | 4 1/2 » |
| 1 Marzo. | 340 | 6 1/2 » |
| 9 » | 375 | 8 1/2 » |
| 18 » | 362 | 1 » |
| 23 » | 300 | 2 » |

Muore il 24 Marzo.

**Cavia X**

| Giorni | Peso | Iniezioni |
|---|---|---|
| 4 Febbraio. | 320 | 1 cc. |

Si trova morta il 6 Febbraio e, perchè in via di putrefazione, non se ne fissano gli organi.

**Cavia XI**

| Giorni | Peso | Iniezioni |
|---|---|---|
| 21 Gennaio. | 382 | 1 cc. |
| 25 » | 348 | 1 » |

Muore il 26 Gennaio.

### RENE.

*Cavia IX.* — Considerevole infiltrazione leucocitaria negli interstizi e nei glomeruli. Larghe emorragie interstiziali, stasi venosa, dilatazione di vasi. Già a piccolo ingrandimento si può apprezzare una considerevole atrofia degli epitelî canalicolari, inquantochè in questi cana-

licoli lo spessore del rivestimento epiteliale è assai diminuito e i nuclei appaiono fittamente disposti. Questi processi atrofici sono assai più evidenti a forte ingrandimento, poichè allora si vede che il citoplasma dei singoli elementi epiteliali è in realtà impiccolito e rarefatto. I confini delle cellule sono poco evidenti, verso il lume del canalicolo il citoplasma è sfrangiato: i nuclei sono talvolta raggrinzati, angolosi, impiccoliti e uniformemente colorati: altrove sono invece rigonfi, colle masse cromatiche pure rigonfie. Frequenti fenomeni di cariorexi. Nei focolai d'infiltrazione leucocitaria si riscontrano assai spesso leucociti allungati e a forme strane, angolose, simili a quelli che si riscontrano nelle infiammazioni sperimentali della cornea. Scarsi depositi di pigmento; in alcuni casi però se ne vedono alcuni granuli piccolissimi nelle capsule del *Bowman* e a guarnire le membrane di sostegno dei canalicoli.

*Cavia X.* — Infiltrazioni leucocitarie nei glomeruli e nel connettivo interstiziale del labirinto. Emorragie perivascolari. Rigonfiamento torbido considerevole negli epiteli canalicolari. Alcuni di questi son distaccati dalla membrana propria e in disfacimento granulare. Incipiente degenerazione grassa.

## Fegato.

*Cavia IX.* — A piccolo ingrandimento è poco distinta la costituzione lobulare dell'organo. Le vene centrali sono dappertutto dilatate e piene di sangue. Infiltrazioni emorragiche si riscontrano or qui or là all'intorno delle vene centrali. I cordoni delle cellule epatiche sono dappertutto assottigliati, dimodochè restano tra loro degli spazii vuoti piuttosto ampli. Anche nelle cellule di quest'organo si può apprezzare un considerevole grado di atrofia, unita a rarefazione del protoplasma. I nuclei sono raggrinzati e le masse cromatiche ingrossate dànno a molti nuclei un aspetto picnotico. Fatti di pigmentazione si riscontrano con frequenza nei leucociti e nelle così dette cellule stellate del fegato. I granuli di pigmento sono sempre rotondi, piuttosto grossi, d'un diametro di circa 4 o 5 micromillimetri ed hanno un aspetto metallico, rifrangente.

*Cavia X.* — Vene centrali dilatate e ripiene di sangue. Infiltrazioni di corpuscoli rossi e di leucociti negli spazi triangolari e intorno ai vasi. Rigonfiamento torbido considerevole.

## Polmone.

*Cavia IX.* — Questo è in gran parte permeabile all'aria e gli alveoli appaiono normali. In altri punti invece si hanno dei focolai d'infarto, colle solite apparenze istologiche di questa lesione anatomica. Non si riscontrano alterazioni speciali nell'intima struttura degli elementi polmonali.

*Cavia X.* — Non si riscontrano alterazioni degne di nota.

### Milza.

*Cavia IX.* — Non vi si riscontrano alterazioni speciali, al di fuori di una straordinaria pigmentazione. Si tratta di granuli di varie dimensioni in massima parte radunati dentro i leucociti.

*Cavia X.* — È da notarsi soltanto un grande ristagno di corpuscoli rossi.

### Cuore.

*Cavia IX.* — I fasci delle fibre appaiono leggermente divaricati fra loro e così pure le singole fibre, che si mostrano isolate e talvolta frammentate. Le fibre stesse sono impiccolite e scomparsa è la loro struttura trasversale. I nuclei pure sono impiccoliti, angolosi, uniformemente colorati. Non si riscontrano fenomeni d'infiltrazione nè fatti di degenerazione.

*Cavia X.* — Leggero grado di rigonfiamento torbido delle fibre.

### Intestino.

*Cavia IX.* — Nell'intestino appare una considerevole atrofia della mucosa; infiltrazione dei villi; pigmentazioni sotto-sierose.

## VI.

### Cobalto.

Cavia XII. — Trattata con soluzione colloide di Co (gr. 0,41 di Co per litro).

| Giorni | Peso | Iniezioni |
|---|---|---|
| 31 Ottobre..... | 427 | 2 cc. |
| 2 Novembre ..... | 419 | 2 » |
| 5 » ..... | 380 | 2 » |
| 7 » ..... | 365 | 2 » |
| 10 » ..... | 403 | 2 » |
| 15 » ..... | 365 | 2 » |
| 17 » ..... | 345 | 4 » |
| 20 » ..... | 323 | 4 » |

Muore il 28 Novembre, mentre pesa gr. 331.

*Necroscopia.* — Stato di marasmo avanzato. Alterazioni distrofiche della pelle. Peritoneo arrossato. Rene e fegato con stasi. Epatizzazione dei lobi inferiori dei polmoni.

*Reperto istologico.*

Rene. — A piccolo ingrandimento si notano considerevoli emorragie interstiziali e gravi fatti degenerativi nella sostanza corticale, di cui tutti i canalicoli sembrano impiccoliti e compressi, in modo che le sezioni di essi non appaiono più circolari, ma di forma assai irregolare. In molti canalicoli gli epiteli son distaccati e fusi in cilindri jalini. Più qua e più là spiccano larghe zone di una sostanza omogenea, come jalina, infiltrata uniformemente di un pigmento giallo scuro. A forte ingrandimento si riscontrano meglio i fatti degenerativi e l'atrofia degli epiteli canalicolari, che son rimpiccoliti, vacuolizzati, spesso distaccati dalla membrana propria e con bordi sfrangiati.

Fegato. — Anche qui si riscontrano lesioni circolatorie e atrofia e degenerazione delle cellule epatiche. I cordoni costituiti da questi elementi sono assottigliati e hanno perduto le loro forme poliedriche caratteristiche. Anche nel fegato esistono larghe zone di una sostanza omogenea, infiltrata uniformemente con un pigmento giallo scuro.

Milza. — In quest' organo notiamo: ristagno di corpuscoli rossi; infiltrazione considerevole dei corpuscoli Malpighiani; degenerazione jalina delle trabecole connettivali: la sostanza jalina è qui pure infiltrata dal solito pigmento.

Cuore. — Le fibre son distaccate tra loro, impiccolite, spesso frammentate, di aspetto omogeneo. In esse, in ispecie nelle zone periferiche o sotto il pericardio viscerale, si notano pigmentazioni considerevoli, quali raccolte di granuli piuttosto grossi e di colorito giallo scuro.

Riassumiamo adesso i dati fornitici dalle esperienze sovra esposte.

* * *

*Cavie trattate col Platino.* — Le cavie trattate col Pt colloide (Cavia I e III) hanno mostrato:

Una grande e progressiva diminuzione di peso, finchè si son ridotte in uno stato di pronunziato marasmo;

infarti polmonari;

atrofia *in toto* di vari organi e specialmente del rene, del fegato, del cuore, della mucosa intestinale;

atrofia cellulare, caratterizzata specialmente da diminuzione nelle dimensioni del citoplasma e da rarefazione di esso;

alterazioni nucleari, consistenti specialmente in ipercromatosi e cariorexi;

depositi di grossi granuli metallici nei leucociti di vari organi.

La cavia trattata col $PtCl^4$ (Cavia II) ha mostrato:

una diminuzione di peso minore che nelle due cavie trattate col Pt colloide;

condizioni macroscopiche dei visceri pressochè normali;

alterazioni circolatorie (emorragie interstiziali, infiltrazioni) e degenerative (degenerazione grassa, jalina, vacuolare);

depositi di piccolissimi granuli di pigmento metallico entro varie cellule (epiteli polmonari, epiteli delle capsule di *Bowman*, fibre muscolari liscie) o fra esse e specialmente nelle membrane sierose che rivestono gli organi (milza, intestino).

* * *

*Cavie trattate con l'Argento.* — La cavia trattata con soluzione colloide del metallo (Cavia VI) ha mostrato:

diminuzione di peso, rimpiccolimento e flaccidezza degli organi, infarti polmonari;

atrofie con rarefazione dei citoplasmi di vari elementi epiteliali (mucosa intestinale, rene, fegato), e di fibre muscolari (dell'intestino e del cuore);

alterazioni nucleari, consistenti in ipercromatosi, picnosi e cariorexi;

pigmentazioni, consistenti in raccolte di grossi granuli per opera di leucociti.

La cavia trattata con $AgNO^3$ (Cavia VII) ha mostrato:

diminuzione progressiva di peso, segni di peritonite, pigmentazioni viscerali visibili macroscopicamente;

infiltrazioni leucocitarie e lesioni circolatorie;

rigonfiamento torbido e degenerazione grassa (rene) e jalina (fegato);

pigmentazioni sotto forma di depositi di aghi scuri e di

granuli finissimi, specialmente nelle trabecole connettivali e in corrispondenza delle sierose.

* * *

*Cavie trattate col Rame.* — La cavia trattata con Cu colloide (Cavia IX) è morta soltanto dopo 47 giorni di trattamento e dopochè aveva ricevuto nel peritoneo considerevoli quantità di soluzione.

L'esame microscopico degli organi di questo animale ha rivelato:

alterazioni circolatorie, consistenti specialmente in infiltrazioni leucocitarie, in emorragie interstiziali o perivascolari (rene, fegato) ed anche in infarti;

processi atrofici di vari elementi epiteliali (fegato, rene, intestino) o delle fibre muscolari del cuore;

pigmentazioni più o meno accentuate e considerevoli nella milza;

alterazioni nucleari (picnosi, ipercromatosi, cariorexi).

La cavia trattata con $CuSO^4$ (Cavia XII) è morta invece rapidamente in 4 giorni e dopo aver ricevuto soltanto 2 cc. di soluzione. Le alterazioni istologiche osservate nei visceri consistevano specialmente:

in lesioni circolatorie analoghe alle precedenti;

in gravi alterazioni degenerative (rigonfiamento torbido, degenerazioni vacuolari, degenerazione grassa incipiente).

* * *

*Cavie trattate con soluzioni colloidi di Oro.* (Cavie IV, V). — In ambedue i casi si è avuta una progressiva diminuzione di peso, accompagnata da un notevole deperimento ed inoltre:

visceri atrofici e flaccidi, infarti polmonari;

atrofia cellulare considerevole di vari epitelî (specialmente degli epitelî renali ed ēpatici);

depositi di piccoli granuli metallici;

alterazioni nucleari di vario tipo e intensità.

* * *

*Cavia trattata con soluzione colloide di Molibdeno* (Cavia VIII). In questa cavia abbiamo osservato:

diminuzione di peso e deperimento,

flaccidezza dei visceri e pigmentazioni;

alterazioni degenerative (rigonfiamento torbido, degenerazione jalina) degli elementi staminali di vari visceri.

* * *

*Cavia trattata con soluzione colloide di Cobalto.* (Cavia XII). Ha mostrato:

diminuzione progressiva del peso fino ad uno stato di avanzato marasmo;

stasi del fegato, dei reni ed epatizzazione dei lobi inferiori dei polmoni;

alterazioni circolatorie, atrofiche e degenerative (degenerazione vacuolare e jalina) di varî elementi epiteliali;

comparsa in alcuni organi (rene, fegato, milza) di larghe zone d'una sostanza omogenea, jalina, uniformemente infiltrata di pigmento giallo.

## Conclusioni.

Le conclusioni che possiamo trarre dalle sovraesposte esperienze sono le seguenti:

1. Le influenze che certi metalli possono esercitare sull'organismo animale son differenti a seconda che questi metalli vengano introdotti nella forma delle cosidette soluzioni colloidi, ovvero nella forma di soluzioni saline in dissociazione elettrolitica.

2. Nel primo caso, del trattamento cioè con soluzioni metalliche colloidi e soprattutto allorchè si tratta di metalli che entrano difficilmente in combinazione (Pt, Au, Ag), sembra che si alteri specialmente il ricambio organico complessivo e anche il ricambio cellulare di certi tessuti: quindi si verifica uno stato di deperimento gravissimo dell'animale e una atrofia cellulare assai considerevole di alcuni elementi anatomici. Le alterazioni circolatorie, che pur si presentano (infarti, stasi, emorragie), son verosimilmente da considerarsi come secondarie e dipendenti dalle cattive con-

dizioni di nutrizione dei tessuti e specialmente delle pareti vasali.

3. Al contrario nel secondo caso, cioè dopo il trattamento con gli stessi metalli, somministrati sotto la forma di soluzioni saline, si hanno i segni d'una intossicazione più o meno lenta e negli organi si riscontrano con prevalenza fenomeni degenerativi, i quali si possono spiegare, ammettendo (secondo l'opinione più accettata in proposito) che si verifichino dirette combinazioni tra gli ioni metallici e le molecole protoplasmatiche, per cui la struttura di quest'ultime venga ad esser profondamente alterata.

In altre parole, riunendo queste due ultime conclusioni, ci sembra di potere esprimere la ipotesi seguente: che cioè alcuni metalli allo stato colloide siano capaci di esercitare una certa influenza (azione catalitica?) sovra i processi chimici del ricambio, mentre allo stato di joni essi producono distruzioni della sostanza vivente, entrando in combinazioni con le molecole protoplasmatiche.

Cagliari, Marzo 1902.

---

ERRATA-CORRIGE.

Nel lavoro dei Prof. G. Galeotti e Dott. E. Zardo pubblicato nel fascicolo 1° (1902) da pag. 5 a pag. 32, col titolo: *Su di un microrganismo patogeno isolato dal « Mures Brodatux »*, leggasi invece « *Murex Bradatus* ».

DOMENICO CESARE BARTOLINI, *Responsabile*.

Laboratorio di Fisiologia di Firenze diretto dal Prof. Giulio Fano.

# SULL'AZIONE DEL PEPTONE NEL SANGUE
## DELLA CAVIA E DEL ROSPO.

CONTRIBUTO SPERIMENTALE ALLO STUDIO DELLA COAGULAZIONE DEL SANGUE.

**DOTT. ENRICO PERSANO.**

Non credo inutile premettere brevissime note riassuntive sui resultati principali delle ricerche fin qui fatte intorno all'azione anticoagulante del peptone. Nel 1880 *Schmidt-Mülheim* per il primo trovò che il peptone iniettato nel torrente circolatorio di un cane a digiuno, nella proporzione di gr. 0,30 per kg. di animale, ne rendeva il sangue incoagulabile. Nello stesso anno *Albertoni* confermò i reperti dello *Schmidt*, e constatò che il peptone è inattivo nel coniglio e nella pecora. L'anno seguente *Fano* vide che l'azione del peptone è tanto più marcata, quanto più rapida è stata l'iniezione: una iniezione lentissima riesce inattiva; in ambedue i casi però il sangue viene immunizzato contro una seconda iniezione di peptone, purchè l'intervallo non oltrepassi le 24 ore. Anche *Fano* trovò che il peptone è assolutamente inattivo nel coniglio, sì *in vivo* che *in vitro;* è attivo invece il plasma di sangue (di cane) peptonizzato, purchè non sottoposto alla ebollizione. Come il plasma, si comporta anche il sangue di peptone. Egli mostrò che il peptone iniettato nel sangue dà luogo alla formazione di una sostanza che impedisce il processo della coagulazione: tale sostanza è probabilmente il prodotto dell'azione modificatrice del peptone sui corpi proteici del plasma normale circolante; infatti il loro valore pro-

centuale è minore nel plasma peptonizzato che nel siero normale (5,475-5,906).

Il peptone iniettato nelle cavità sierose non ha alcuna azione, nè anticoagulante, nè immunizzante (*Contejean*). *In vitro* il peptone ha un' azione pressochè nulla, a meno di non usarlo a grandi dosi, in quelle stesse nelle quali impedisce la coagulazione anche il Cl Na (*Gley* e *Camus*).

Il peptone iniettato in una vena sparisce rapidamente dal sangue circolante, senza che si possa ammettere una sua eliminazione per i reni, giacchè questi in generale, per l'abbassamento della pressione sanguigna prodotta dal peptone stesso, cessano di secernere l' orina (*Fano*).

Bisogna quindi ammettere che venga o distrutto o trasformato, e, siccome l' azione del peptone è subordinata alla funzione epatica, — giacchè ogni causa che sopprima o diminuisca tale funzione sopprime o diminuisce del pari l' azione del peptone (*Gley* e *Pachon*) — si può ammettere che il fegato o trasformi il peptone nella sostanza anticoagulante (*Gley* e *Pachon*) o, sotto la sua influenza, produca detta sostanza (*Delezenne*).

In seguito ad una iniezione endovenosa di peptone, riscontriamo nel sangue un aumento del tasso emoglobinico e dei corpuscoli rossi (*Camus* e *Gley*) ed una marcata distinzione dei leucociti: i rimasti hanno però dei movimenti più attivi ed una maggiore resistenza ai comuni mezzi distruttori (*Athanasiu* e *Carvallo*).

Il plasma di sangue peptonizzato ed il sangue di peptone hanno come il peptone un' azione anticoagulante che si esplica anche nei conigli ed *in vitro:* perde però ogni azione positiva sì *in vivo* che *in vitro* se è sottoposto alla ebollizione (*Fano*).

Nella sospensione della coagulazione per il peptone, i sali di calcio non hanno alcuna parte; infatti l' addizione di cloruro di calcio al sangue peptonizzato non ne provoca la coagulazione più rapidamente di uno stesso volume di siero fisiologico, ed inoltre l' iniezione di cloruro di calcio fatta prima o dopo l' iniezione di peptone non cambia affatto i resultati dell' azione pura (*Arthus*).

Il sangue di peptone lasciato a sè stesso si separa in tre strati; sul fondo i globuli rossi, in alto il plasma, in mezzo un sottilissimo strato punteggiato, biancastro, formato dai leucociti. In questo strato si inizia la coagulazione che avviene di solito dopo qualche giorno dalla estrazione; colpisce quindi lo strato dei globuli rossi e, molto più tardi, talvolta un giorno o due dopo, anche il plasma, il quale forma così come una cotenna sormontante l'ammasso dei globuli. Questa coagulabilità spontanea del sangue di peptone è favorita dalla neutralizzazione o dalla leggera acidificazione; è ritardata dall'aggiunta di alcali. Anche il plasma di peptone coagula allungandolo con acqua distillata o facendolo attraversare da una corrente di $CO^2$; questa coagulazione è tanto meno marcata quanto più il plasma è stato liberato e separato colla centrifugazione dai corpuscoli bianchi; anzi, se la centrifugazione viene molto prolungata, il plasma di peptone non coagula più con nessuno dei mezzi detti, ma sòlo dopo l'aggiunta del fermento della fibrina (*Athanasiu* e *Carvallo*).

L'azione del peptone non è ostacolata da tutte le cause, in genere, di shock; è ostacolata invece fortemente dalla estirpazione dei due gangli celiaci o dalla lesione dei nervi epatici (*Contejean*).

Le iniezioni di peptone in una cagna gravida rendono incoagulabile il sangue della madre, ma non quello del feto, probabilmente perchè il peptone passa tanto lentamente attraverso il filtro placentare da perdere ogni azione sul sangue fetale nello stesso modo che riesce inattiva una iniezione lentissima. (*Wertheimer* e *Delezenne*).

Anche negli uccelli il peptone ha una azione positiva anticoagulante e immunizzante; occorre però che l'animale sia a digiuno da 16-18 ore, e, per l'immunizzazione, che fra le due iniezioni non passi un intervallo maggiore di 24-36 ore (*Spangaro*).

---

## PARTE SPERIMENTALE.

### Azione delle iniezioni di propeptone nelle cavie e nei rospi.

Dietro consiglio del prof. *Fano*, io ho fatto una serie di ricerche sull'azione delle iniezioni di peptone nelle cavie e nei rospi, ed esporrò ora i resultati di tali ricerche. Dico subito che per tutte le mie esperienze ho adoperato il peptone di *Savory-Moore*, molto ricco di propeptone ed avente una marcata azione anticoagulante nel cane. Di questo peptone facevo delle soluzioni al 5 o al 10 per 100 in soluzione fisiologica di Cl Na. Le provette nelle quali raccoglievo il sangue erano tutte precedentemente ben lavate ed asciugate alla stufa, quindi tappate con del cotone o coperte con un cappuccetto di carta, allo scopo di impedire in esse la caduta di impurità contenute nell'aria e di essere quindi più sicuro dei resultati ottenuti. Altri dettagli verrò man mano esponendo.

### Esperienze fatte sulle cavie.

Il sangue di cavia, quando l'animale è in condizioni normali, coagula assai rapidamente: bastano in media 2, 3 minuti perchè si rapprenda completamente in un coagulo molto denso, che permette di capovolgere la provetta ove il sangue è stato raccolto senza che se ne versi neppure una goccia. Volendo esperimentare l'azione del peptone, ho incominciato dall'iniettare dosi piuttosto forti, diminuendole ogni volta.

**1ª Esperienza.** — *Cavia del peso di gr. 300 non a digiuno.* — Isolo accuratamente la vena giugulare destra, nella quale introduco una cannulina di vetro che metto in comunicazione con una buretta contenente una soluzione di peptone al 5 per cento e inietto quindi 5 cc. di questa soluzione (proporzione di gr. 0,80 per chilogr.).

L'iniezione dura circa mezzo minuto ed è fatta in modo da evitare affatto il pericolo di un'embolia gassosa.

L'animale muore subito dopo l'iniezione.

**IIª Esperienza.** — *Cavia del peso di gr. 250, non a digiuno.* — Inietto con lo stesso processo della prima esperienza 3 cc. d'una soluzione pure al 5 per cento (proporzione di gr. 0,60 per chilogr.), facendo sempre attenzione a che non avvenga alcuna embolia gassosa. Anche questa volta l'animale muore, ma dopo una sopravvivenza all'iniezione di alcuni minuti.

Estratto rapidamente dal cuore il poco sangue che vi era contenuto senza che venisse a contatto ai tessuti, vedo che coagula prontamente.

**IIIª Esperienza.** — *Cavia del peso di gr. 450, non a digiuno.* — Inietto, sempre col solito processo, 5 cc. di una soluzione di peptone al 5 per cento (proporzione di gr. 0, 55 per chilogr.).

L'animale sopporta bene l'iniezione, presenta solo delle contrazioni crampiformi agli arti.

Preparo quindi la carotide, pure di destra, vi introduco una cannulina e raccolgo in una provetta alcuni centimetri cubici di sangue, avendo cura che questo non venga a contatto coi tessuti, ma scoli direttamente dalla cannulina nella provetta. La coagulazione avviene con la rapidità normale. L'intervallo fra iniezione ed estrazione del sangue è di circa mezz'ora.

Suturo la ferita e l'animale torna presto in buone condizioni di vita.

**IVª Esperienza.** — *Cavia del peso di 350 gr. non a digiuno.* — Inietto 4 cc. di soluzione di peptone al 5 per cento (proporzione di gr. 57 per chilogr.). L'animale sopporta assai bene l'iniezione. Introduco quindi una cannulina nella carotide destra, già precedentemente isolata e ne estraggo il sangue, sempre badando che non venga in contatto coi tessuti. L'intervallo fra iniezione ed estrazione del sangue è di circa 20 minuti. Il sangue estratto coagula come normalmente.

**Vª Esperienza.** — *Cavia del peso di gr. 300, non a digiuno.* — Perchè l'iniezione avvenga più rapidamente, la eseguo con una siringa applicata alla cannulina, introdotta nella vena giugulare destra. Inietto 16 centigrammi di peptone sciolti in 2 centimetri cubici della soluzione fisiologica di Cl Na (proporzione di gr. 0,53 per chilogr.).

Introduco una cannulina nella carotide, pure di destra già isolata e ne estraggo il sangue. (L'animale ha sopportato bene l'iniezione). L'intervallo fra iniezione e presa di sangue è di 18 minuti. Il sangue estratto coagula rapidamente.

Come risulta da tali esperienze, la cavia si comporta, di fronte alle iniezioni endovenose di peptone, come il coniglio: resiste alla sua azione anticoagulante fino a certe dosi (gr. 0,55 0,60 per Kg.); per dosi maggiori muore o subito o con una sopravvivenza di pochi minuti: questa resistenza si ha anche per iniezioni rapidissime.

Ma avendo fin qui usato cavie che al momento della esperienza non erano a digiuno, ho voluto vedere se da questa condizione in cui si trovavano non dipendesse la loro resistenza al peptone.

Ecco le esperienze fatte in proposito:

**VI^a Esperienza.** — *Cavia del peso di gr. 600 che non ha mangiato da 24 ore.* — Inietto nella giugulare 6 cc. d'una soluzione di peptone al 5 per cento (proporzione di gr. 0,50 per chilogr.).

Dopo un quarto d'ora estraggo dalla carotide col solito metodo e con le stesse precauzioni il sangue. che coagula in pochi minuti, con un ritardo cioè appena accennato.

**VII^a Esperienza.** — *Cavia del peso di gr. 500, a digiuno da 24 ore.* — Inietto nella giugulare destra 5 cc. d'una soluzione di peptone al 5 per cento (proporzione di gr. 0,50 per chilogr.).

Dopo 20 minuti estraggo il sangue dalla carotide dello stesso lato; osservo lo stesso lievissimo ritardo nella coagulazione.

Altre esperienze simili, che qui non stò a riportare, per amore di brevità, conducono allo stesso risultato. È chiaro dunque che il trovarsi l'animale a digiuno non gli conferisce affatto una minor resistenza rispetto all'azione anticoagulante del peptone, giacchè il ritardo osservato in tutti gli animali esperimentati in queste condizioni, variava in limiti molto ristretti di 3-5 minuti oltre il tempo di coagulazione ordinario.

Mi sono allora domandato se forse, nella cavia, la sostanza anticoagulante, pur producendosi, non venisse eliminata o piuttosto distrutta nell'organismo (perchè nella maggior parte dei casi, anzi quasi in tutti i casi l'animale non orinava) con gran rapidità, tanto che, con un intervallo di 15-20 minuti fra iniezione ed estrazione, quale avevo lasciato trascorrere nelle esperienze fatte, avesse avuto il tempo di sparire dal sangue. L'esperienza mi ha provato che questo non si verifica. Anche estraendo il sangue 5, 3, 2 minuti dopo l'iniezione, si osserva che coagula, però con un ritardo di alcuni minuti.

**VIII^a Esperienza.** — *Cavia del peso di gr. 570 a digiuno da circa 24 ore.* — Prima di fare l'iniezione preparo la carotide per l'estrazione del sangue; inietto quindi 6 centimetri cubici di una soluzione di peptone al 5 per cento (proporzione di gr. 0,52 per chilog.): dopo 5 minuti

estraggo il sangue; questo appare più denso dell'ordinario e di un colorito rosso-cupo; per 10-12 minuti si mantiene liquido, quindi comincia ad addensarsi e dopo 20 minuti è completamente coagulato; il coagulo è affatto uguale al coagulo che si ha normalmente.

**IXª Esperienza.** — *Cavia del peso di gr. 450, non a digiuno*, preparata come nell'esperienza precedente. Inietto 5 cc. di una soluzione di peptone al 5 per cento (proporzione di gr. 0,55 per chilogr.). Dopo 3 minuti estraggo il sangue che mi apparisce del pari piuttosto denso e rosso cupo.

Anche qui la coagulazione avviene con un ritardo di soltanto pochi minuti.

**Xª Esperienza.** — *Cavia del peso di gr. 300, non a digiuno*, preparata come sopra. Inietto 3 cc. d'una soluzione di peptone al 5 per cento (proporzione di gr. 0,50 per chilog.). Dopo 2 minuti estraggo il sangue, che si comporta come nelle due esperienze precedenti.

Riconosciute inefficaci le iniezioni di peptone, ho voluto provare se, come nel coniglio, anche nella cavia, la coagulazione fosse impedita dalle iniezioni di siero di sangue peptonizzato, ed ho trovato che anche a queste iniezioni la cavia offre una forte resistenza, giacchè la coagulazione del sangue avviene con un ritardo di poco maggiore a quello ottenuto esperimentando in animali a digiuno e facendo iniezioni molto rapide, o estraendo il sangue quasi subito dopo l'iniezione.

**XIª Esperienza.** — *Cavia del peso di gr. 800, non a digiuno.* — Inietto nella giugulare destra 18 cc. di plasma di sangue di cane peptonizzato, e dopo circa 15 minuti estraggo sempre con le solite precauzioni il sangue, raccogliendolo in tre provette. Osservo che il sangue coagula con un certo ritardo breve, ma evidente, e non dovuto di certo nè allo stato di digiuno, nè alla estrazione immediata del sangue dopo l'iniezioni, condizioni che non esistevano a questa esperienza. Il ritardo non è uguale per le tre provette; infatti prima coagula il sangue estratto per ultimo (ritardo di 12-15 minuti), dopo il sangue contenuto nelle due prime provette, senza una differenza apprezzabile fra esse (ritardo di circa 20).

**XIIª Esperienza.** — *Cavia del peso di gr. 550, non a digiuno.* — Inietto nella giugulare destra 15 c. cubici di siero di sangue di cane peptonizzato. Dopo 12 minuti estraggo dalla carotide il sangue: la coagulazione comincia dopo un quarto d'ora e si compie assai rapidamente.

Altre esperienze consimili hanno dato sempre uno stesso resultato, un ritardo cioè che oscillava fra i 12 e i 20 minuti.

Riassumendo, io credo di poter trarre dalle esperienze sopra descritte le seguenti conclusioni:

1. Il sangue di cavia in condizioni normali coagula rapidamente dopo un intervallo di due o tre minuti, di rado di quattro o cinque minuti.

2. Le iniezioni endovenose di peptone in dosi di gr. 0,50-0,60 per Kg. di animale non esercitano nella cavia alcuna azione anticoagulante, anche se fatte molto rapidamente, quando l'animale non si trovi in stato di digiuno, e l'intervallo fra l'iniezione e la presa di sangue non sia inferiore ai 10-15 minuti.

3. Le iniezioni di peptone in dosi maggiori di gr. 0,60 per Kg. di animale, producono rapidamente la morte.

4. Se l'animale, al momento dell'esperienza, trovasi a digiuno da 24 ore, l'iniezione di peptone in dose non mortale, provoca un ritardo di pochi minuti sul tempo di coagulazione normale. Un uguale ritardo si osserva estraendo il sangue a brevissimo intervallo (2-5 minuti) dalla iniezione in qualunque condizione questa sia fatta.

5. L'iniezione endovenosa di plasma di sangue di cane peptonizzato ha nella cavia una influenza lievissima sulla coagulazione del sangue, ritardandola solo di un tempo che oscilla fra i 12 e i 20 minuti.

6. Nel sangue che, per una delle cause dette, ha ritardato a coagulare, non ho mai osservato il fatto della *fibrinolisi*, neppure leggera.

## Esperienze fatte sui rospi.

Per queste esperienze io ho adoperato quasi sempre il *Bufo vulgaris*, raramente il *Bufo viridis*, che per la sua piccolezza e per la scarsità della sua massa sanguigna si presta male a tale ordine di ricerche. Scopo di tali ricerche è stato di risolvere questi quesiti:

1. Come coagula normalmente il sangue di rospo.

2. Influenza del peptone sul sangue di rospo, rispettivamente in *vivo* ed in *vitro*, ed in quali dosi.

3. Se la influenza in *vivo* viene modificata dalla asportazione del fegato o da altre condizioni.

4. Durata dell'azione del peptone.

5. Influenza delle iniezioni endovascolari di plasma di sangue di rospo peptonizzato.

6. Se una prima iniezione immunizza l'animale contro una seconda.

7. Alterazioni numeriche e qualitative degli elementi morfologici del sangue, in seguito ad una iniezione di peptone.

8. Se il sangue di peptone o il plasma di sangue peptonizzato possono riacquistare il potere di coagulare con l'aggiunta di acqua distillata, con l'acidificazione e mediante il passaggio d'una corrente di $CO^2$.

*Coagulazione del sangue normale.*

Il tempo di coagulazione del sangue normale, non è uguale nel *Bufo viridis* e nel *Bufo vulgaris*: nel primo è assai più breve che nel secondo, ed in questo presenta molte differenze da animale ad animale. Forse queste differenze sono in rapporto colla stagione in cui vien fatto l'esperimento, colla robustezza dell'animale ecc.; infatti ho veduto che il sangue dei rospi esperimentati durante l'inverno, nella quale stagione essi sono più torpidi, meno robusti, coagula più rapidamente del sangue tolto ai rospi nella primavera, quando essi hanno una robustezza molto maggiore. Forse può avere influenza sul tempo di coagulazione anche la temperatura dell'ambiente che difficilmente si può mantenere costante, specialmente in stanze ampie, ed alle sue differenze potrebbero essere dovute almeno in parte la maggiore o minore rapidità della coagulazione.

Se noi estraiamo dal cuore di un *Bufo viridis* il sangue, raccogliendolo direttamente in una provetta, vediamo che, dove il sangue è più a contatto col vetro, cioè sul fondo e sulle pareti cominciano subito a formarsi degli stracci; dei filamenti di fibrina, che a poco a poco aumentano, serrando fra le proprie maglie la parte corpuscolare e plasmatica del sangue, finchè, dopo 5, 7, al massimo 10 minuti, tutto il sangue si è rappreso in un coagulo assai compatto.

Se però, prima di essere accolto nella provetta, il sangue è passato anche per pochi secondi sui tessuti, la coagulazione avviene molto più rapidamente.

Se esaminiamo ora come si comporta il sangue del *Bufo*

*vulgaris* raccolto in una provetta, e non venuto a contatto coi tessuti, vediamo che si rapprende in una massa molliccia, semifluida, come gommosa e rimane così per alcuni minuti, passati i quali, comincia a formarsi, pure sul fondo della provetta, un coagulo, però non molto resistente e facilmente spappolabile; questo coagulo lentamente e gradatamente invade gli strati superiori del sangue, e dopo un intervallo di tempo oscillante, a seconda degli animali, fra i quindici e i cinquanta minuti — come abbiamo già detto, questo intervallo è variabilissimo — il sangue è tutto coagulato. Qualche volta però rimane un poco di sangue liquido, e questo non coagula più, neppure dopo molto tempo. Lasciato a sè, il coagulo, dopo un certo numero di ore, spreme fuori il siero e qualche volta rimane integro, qualche volta invece in parte si ridiscioglie in una sostanza molle, semifluente, come prima; subisce cioè una leggera fibrinolisi.

Anche il sangue di *Bufo vulgaris*, se è rimasto qualche tempo, pur breve, in contatto coi tessuti, coagula molto rapidamente.

*Azione del propeptone in vivo.*

Nelle prime ricerche io introducevo la soluzione di peptone nel torrente circolatorio per mezzo di iniezioni endovenose, valendomi della vena ipogastrica, che è la più facilmente accessibile: la isolavo fra due legature, una a nodo, periferica, ed una a fiocco, centrale; la incidevo e vi introducevo in direzione centripeta una cannulina finissima, avendo molta attenzione a non lacerare la vena, evenienza assai facile a causa del piccolo calibro della vena stessa e della delicatezza delle sue pareti.

Facevo quindi l'iniezione: dopo 10-15 minuti aprivo il cavo toracico, mettevo a nudo il cuore che lussavo in avanti, al di fuori della ferita fatta, e, apertolo con un colpo di forbici, ne lasciavo scolare il sangue in una provetta ben lavata ed asciugata.

In questo modo ho trovato che, anche nel rospo, il peptone ha un'azione anticoagulante assai spiccata, purchè dato in

dosi piuttosto elevate, di gr. 0,80-0,85 per kg. di animale. Il sangue, fuori dell'organismo, ben chiuso in una provetta, onde impedire che dei germi eventualmente potessero cadervi e facilitare la putrefazione, rimane liquido per due-tre giorni.

Dopo mezz'ora o un'ora dalla estrazione del sangue si nota che i globuli rossi cominciano già a scendere verso il fondo della provetta; ed alla superfice libera del liquido si nota una striscia chiara, dovuta al fatto che, in tale zona il plasma si spoglia dei suoi elementi morfologici. Questa striscia chiara si fa sempre più limpida e più alta, finchè dopo due-tre ore, talvolta anche solo dopo un'ora e mezza, la separazione tra siero e parte corpuscolare è netta: il plasma occupa i due terzi, qualche volta anche più, dell'altezza totale del liquido; il resto è occupato dai globuli rossi. Nel limite fra i due strati, se ne nota un terzo, sottilissimo, non continuo, ma come granuloso, costituito da tanti piccoli punti bianchi, più o meno confluenti. Se noi a questo punto agitiamo anche leggermente la provetta, i tre strati si mescolano, e si ha di nuovo un liquido di color rosso uniforme precisamente come prima. La precoce e rapida caduta dei globuli rossi sul fondo della provetta, porta a credere che in questi animali tali elementi debbono essere, relativamente al plasma, molto più pesanti che in altri animali, specialmente in quelli a sangue caldo, nei quali, anche rendendo il sangue incoagulabile, occorrono molte ore perchè avvenga la separazione netta e ben distinta fra parte plasmatica e parte corpuscolare.

Abbiamo detto che il sangue di peptone rimane liquido per due-tre giorni. Dopo questo tempo, nello strato biancastro intermedio al plasma e allo strato dei globuli rossi, e che non è composto altro che da leucociti, vediamo formarsi dei filamenti fibrinosi che in breve aumentano di lunghezza e di numero fino a formare un vero coagulo molto sottile; questo coagulo occupa solamente la zona dei leucociti, infatti il plasma rimane perfettamente liquido, e, se lo decantiamo, e, con una pinza solleviamo il coagulo, questo si stacca con gran facilità, portando con sè soltanto lo straterello dei corpuscoli rossi più a contatto con esso.

TAVOLA I.

| Animale | Peso | Dose iniettata | Proporzione per Kg. | Ora delle iniezioni | Presa del sangue | Comportamento del sangue |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Bufo vulgaris | gr. 150 | 5 cc. di una soluzione di peptone al 10 % | gr. 3 (poco più) | 10,30′ | 10,45′ | Non coagula: dopo circa 1 ora, comincia la separazione del plasma che è completa dopo 3 ore: dopo 2 giorni e ½ avviene la coagulazione nel modo detto. |
| Bufo vulgaris | gr. 185 | circa 4 cc. della stessa soluzione | gr. 2 | 9 | 9,15 | Come nella esperienza precedente. |
| Bufo vulgaris | gr. 100 | 1 cc. e ½ della stessa soluzione | gr. 1,5 | 10 | 10,15 | Come nella esperienza precedente. |
| Bufo vulgaris | gr. 100 | 2 cc. di una soluzione di peptone al 5 % | gr. 1 | 9,15 | 9,30 | Come sopra. |
| Bufo vulgaris | gr. 175 | 3 cc. di una soluzione di peptone al 5 % | gr. 0,85 | 15,20 | 15,35 | Come sopra. |
| Bufo vulgaris | gr. 150 | 1 cc. e ½ di peptone in soluzione al 5 % | gr. 0,50 | 11 | 11,15 | Il sangue è meno fluido che nelle altre esperienze e mostra una certa tendenza a coagulare: infatti coagula ma assai lentamente (2½–3 ore) ed il coagulo formatosi è più molle e meno consistente dell'ordinario. Lasciato a sè subisce una lieve fibrinolisi. |

I rospi sopportano benissimo delle iniezioni di peptone in dosi tali che, iniettate in altri animali, ne produrrebbero rapidamente la morte; cioè di 3 grammi per kg. di animale. Con questa dose appunto io ho cominciato le mie esperienze, andando man mano diminuendola, fino ad arrivare alla dose efficace minima, che ho già detto essere di gr. 0,85 per kg.

Mi preme qui di ripetere che in queste prime ricerche io facevo le iniezioni endovenose, nella vena ipogastrica. (Vedi la Tavola n. 1).

Il trovare che nel rospo la dose efficace minima di peptone era di gr. 0,85 per kg. di animale, cioè molto maggiore di quella che è necessaria e sufficiente per rendere incoagulabile il sangue del cane e del gatto, mi ha fatto venire in mente il dubbio se tale notevolissima differenza fosse realmente dovuta alla diversa natura degli animali esperimentati, oppure a qualche altra causa: infatti la vena ipogastrica, come è noto, si perde tutta nel fegato, onde il peptone iniettato in questa vena deve passare per tale organo prima di entrare nella grande circolazione. Mi sono domandato allora se parte del peptone iniettato non venisse o distrutto o trasformato o per lo meno trattenuto nel fegato, e, per rispondere a questa domanda, nelle esperienze successive ho iniettata la soluzione di peptone direttamente nel cuore mediante una siringa di *Pravaz* munita di un ago sottilissimo. I rospi adoperati in queste esperienze erano tutti del genere *Bufo vulgaris* e del peso medio di cento grammi, con poche e lievi differenze, del tutto trascurabili (grammi 95, 97, 100, 102, 105....). Onde avere discrete dosi di peptone in quantità di liquido piccole, ne usavo sempre una soluzione al 10 °/₀, sì che in ogni centimetro cubo di liquido, e quindi in ogni siringa erano contenuti gr. 0,10 di peptone. Ho cominciato dall'iniettare un intero centimetro cubo di soluzione (proporzione di gr. 1 per kg. di animale), diminuendo poi gradatamente di un decimo di centimetro cubo, fino ad arrivare ad iniettare solamente quattro, tre decimi di centimetro cubo (proporzione di gr. 0,40, 0,30 per kg.). Risultato di queste esperienze è stato che il peptone, iniettato direttamente nel cuore ha una azione spic-

catamente anticoagulante anche nella dose di mezzo grammo per kg.; in qualche caso tale azione si rivela anche per dosi minori, cioè di quaranta centigrammi per kg.: mai per dosi inferiori. In queste esperienze ho anche constatato un fatto, di cui veramente non ho trovato nessun cenno nella parte della letteratura che riguarda il peptone e sostanze affini. Appena è cominciata l'iniezione, in modo che soltanto poche goccie della soluzione di peptone sono penetrate nel ventricolo, questo si arresta quasi istantaneamente: qualche secondo dopo si arrestano anche gli atrii; il cuore rimane così immobile per un tempo variabile — tre-cinque-dieci, talora venti minuti — quindi comincia di nuovo a contrarsi, prima debolmente poi sempre più forte e finisce col tornare a pulsare come prima. Ma di questo argomento mi riserbo di parlare più tardi, descrivendo più dettagliatamente il fenomeno, e riferendo i resultati di esperienze fatte in proposito.

Naturalmente, per questo arresto del cuore, la presa di sangue non può esser fatta che 20, 25, 30 minuti dopo l'iniezione.

Nella Tavola n. II (inserita a pag. 377) sono riportate le esperienze di cui ho parlato.

Il constatare una differenza tanto notevole (di gr. 0,35) fra la dose minima attiva nelle iniezioni nella vena ipogastrica, e la dose minima attiva nelle iniezioni endocardiche, ha avvalorato in me l'opinione che tale differenza fosse legata al fegato.

Per convincermene, ho voluto cercare quale era la dose minima attiva di peptone — iniettato direttamente nel cuore — dopo di averlo trattato col succo epatico. Il procedimento da me usato è stato questo: presi due fegati di rospo, triturati fino ad essere ridotti ad una poltiglia e lavati dal sangue, vi ho aggiunto 2 cc. di una soluzione di peptone al 10 % (pari a 20 centigr. e 3 cc. di soluzione fisiologica di ClNa; ho lasciato in infuso per 24 ore, ho filtrato e quindi bollito il filtrato onde far precipitare i nucleoproteidi e filtrato di nuovo.

TAVOLA II.

| Animale | Peso | Dose iniettata | Proporzione per Kg. | Ora della iniezione | Presa del sangue | Comportamento del sangue |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | gr. | cc. di soluz. al 10 % | gr. | | | |
| Bufo vulgaris | 100 | 10 | 1 | 9,15 | 9,40 | Non coagula: dopo 3 ore è già avvenuta la separazione nei 3 strati: dopo 3 giorni si forma il coagulo nella zona dei leucociti. |
| Bufo vulgaris | 100 | 9 | 0,90 | 11 | 11,30 | Come nella esperienza precedente. |
| Bufo vulgaris | 95 | 8 | 0,80 | 10,30' | 10,50 | Id.. Separazione degli strati dopo ore 2,30'. Coagulazione dopo 2 giorni. |
| Bufo vulgaris | 102 | 7 | 0,70 | 14,20 | 14,40 | Id.. Separazione degli strati dopo 3 ore. Coagulazioni dopo 2 giorni e 1/2. |
| Bufo vulgaris | 105 | 6 | 0,60 | 15,10 | 15,25 | Id.. Separazione degli strati dopo ore 2 1/4. Coagulazione nel 3° giorno. |
| Bufo vulgaris | 100 | 5 | 0,50 | 9,30 | 9,50 | Come sopra |
| Bufo vulgaris | 98 | 4 | 0,40 | 9,50 | 10,10 | Il sangue coagula, ma con un ritardo di circa mezz'ora sul tempo di coagulazione normale (cioè dopo circa ore 1 1/2 dall'estrazione). |
| Bufo vulgaris | 95 | 4 | 0,40 | 11,30 | 11,45 | Il sangue rimane liquido per poco più di 24 ore, dopo le quali coagula ma parzialmente, e il coagulo è assai molle. |
| Bufo vulgaris | 100 | 3 | 0,30 | 10,10 | 10,20 | Il sangue coagula come normalmente. |
| Bufo vulgaris | 105 | 3 | 0,30 | 11 | 11.15 | Come nell'esperienza precedente. |

In queste manipolazioni il liquido da cinque cc. che era, si è ridotto a quattro, contenendo ogni centimetro cubico 5 centigr. di peptone, cioè una quantità di peptone attiva in un rospo di 100 gr., facendo l'iniezione endocardica, se il peptone non è alterato. Invece iniettando un centim. cubico di questo liquido nel cuore di un rospo di 100 gr. ed estraendo dopo alcuni minuti il sangue, questo rimane liquido soltanto per tre, quattro ore, durante le quali si divide negli strati che conosciamo; passato questo tempo si forma un coagulo che però occupa solo lo strato dei leucociti e il plasma. Se iniettiamo due centim. cubici, dello stesso liquido, il sangue si mantiene perfettamente incoagulabile, come dopo una iniezione di peptone. Un fatto degno di nota e riscontrato in ambedue le esperienze è che il liquido in questione non esercita *nessuna* azione inibitoria sui moti cardiaci. Io perciò mi credo autorizzato, in base a quanto ho detto — ed esperienze simili ripetute mi hanno portato allo stesso resultato — a credere che il peptone a contatto del fegato, venga da questo trasformato in modo da perdere *in parte* la sua azione anticoagulante, *del tutto*, l'azione d'arresto sui movimenti del cuore.

In appoggio a questa mia ipotesi sta un altro fatto, ed è che, nella maggior parte dei casi, nei quali ho trovata efficace l'iniezione di peptone in dose di gr. 0,40 per kg. — cioè inferiore alla dose minima media, — i rospi esperimentati avevano subìto prima l'estirpazione del fegato. Ma su ciò tornerò più tardi, parlando dell'azione del peptone nei rospi disepatizzati.

*Spangaro* ha trovato che, e negli uccelli e nel cane, il sangue reso incoagulabile per l'azione del peptone, messo a contatto coi tessuti dell'animale, coagula prontamente; questo fatto non si verifica mai nel rospo. Se noi, nell'estrarre il sangue dal cuore, prima di raccoglierlo nella provetta, lo facciamo scorrere sui tessuti; se anche, aperto il cuore, lasciamo che il sangue si versi nel cavo toracico e dopo 1-2 minuti lo facciamo scolare nella provetta, vediamo che l'azione anticoagulante del peptone non viene affatto diminuita, ma si esplica perfettamente come nei casi in cui il sangue viene raccolto nella provetta direttamente dal cuore.

*Durata dell' azione del peptone.*

Non è costante, ma subisce delle oscillazioni di 1-2-3 ore da un animale all' altro. E bene può intendersi esattamente intorno al significato di questa parola « durata ». Se con essa intendiamo il tempo durante il quale l' azione anticoagulante apparisce chiara, marcata, evidente, le esperienze dimostrano che questo tempo non supera le tre, le quattro ore; se invece intendiamo il tempo limite, durante il quale il peptone conserva la sua azione anticoagulante, anche ridotta al minimo, si va a sei, sette, otto ore dopo la iniezione. Come si vede, le oscillazioni sono molto maggiori per la durata, chiamiamola relativa, che per la durata assoluta: in questa non superano mai un' ora, in quella salgono a due, tre, talora anche quattro. Si potrà obiettare che non è possibile fare una distinzione netta fra durata assoluta e durata relativa, perchè fra questi due intervalli ve ne saranno altri intermedi. In realtà non è così, almeno in base alle esperienze fatte da me e che sono riportate nella Tavola n. III: come da esse appare chiaro, il sangue estratto tre, quattro ore dopo la iniezione di una quantità efficace di peptone, si comporta precisamente come il sangue levato pochi minuti dopo l' iniezione stessa, invece il sangue estratto dopo cinque, sei, sette ore e più, mostra subito una certa tendenza a coagulare, facendosi subito più denso, e anche talora comparendo subito qualche filamento di fibrina; infatti, dopo un tempo che varia fra una a poche ore, la coagulazione ha luogo; di solito però è una coagulazione parziale e, lasciando a sè il sangue, si osserva che per lo più avviene la fibrinolisi più o meno manifesta.

Tutto quello che ho detto vale, naturalmente, a condizione che si inietti sempre una stessa dose di peptone (nelle mie esperienze gr. 0,50 per kg.); aumentando la dose, portandola p. es. fino ad 1 gr. per kg., anche la durata assoluta cresce, ma non proporzionatamente; non supera mai le sei ore. Cresce del pari la durata relativa. (Vedi la Tavola n. III, inserita a pag. 380).

TAVOLA III.

| Animale | Peso | Dose iniettata | Proporzione per kg. | Intervallo fra l' iniezione e la presa del sangue | Comportamento del sangue |
|---|---|---|---|---|---|
| | gr. | gr. | gr. | | |
| Bufo vulgaris | 120 | 0,06 | 0,50 | ore 2 | Il sangue non coagula: dopo circa 3 ore la separazione nei vari strati è già avvenuta: a metà del terzo giorno si forma il lieve coagulo nello strato dei leucociti. |
| » » | 100 | 0,05 | 0,50 | » 3 | Come nella esperienza precedente. |
| » » | 95 | 0,05 | 0,50 | » 3 1/2 | Come nelle esperienze precedenti. |
| » » | 145 | 0,07 | 0,50 | » 4 | Idem: il sangue si comporta come quando è estratto pochi minuti dopo l'iniezione. |
| » » | 100 | 0,05 | 0,50 | » 4 | Idem: unica differenza è che il coagulo nello strato dei leucoti si forma a metà del 2° giorno; anticipa cioè d'un giorno: ha però lo stesso aspetto. |
| » » | 100 | 0,05 | 0,50 | » 5 | Si fa subito più denso e presto diventa gelatinoso; dopo poco più di un'ora comincia la coagulazione che però non diventa completa; esaminando il sangue alcune ore dopo, si vede che il coagulo si è retratto ed ha spremuto il siero, nel quale nota; sul fondo si è depositata la parte corpuscolare del sangue non coagulato: esaminato ancora dopo alcune ore, si vede che il coagulo si è parzialmente disfatto, ha subito cioè la fibrinolisi. |

TAVOLA III^bis

| Animale | Peso | Dose iniettata | Proporzione per kg. | Intervallo fra l'iniezione e la presa del sangue | Comportamento del sangue |
|---|---|---|---|---|---|
| | gr. | gr. | gr. | | |
| Bufo vulgaris | 110 | 0,05 | 0,50 | ore 5 | La coagulazione avviene nello stesso tempo che normalmente; però anche qui non è completa, e il coagulo va in contro a fibrinolisi manifesta. (I primi filamenti di fibrina sono apparsi quasi subito dopo l'estraz. del sangue). |
| » » | 100 | 0,05 | 0,50 | » 7 | Come nel caso precedente: la coagulazione però è quasi completa: fibrinolisi appena appena accennata. |
| » » | 120 | 0,06 | 0,50 | » 9 | Coagulazione affatto normale. |
| » » | 90 | 0,05 | 0,50 | » 8 | La coagulazione è completa, ma ritardata di circa una mezz' ora (comincia dopo un' ora). Non fibrinolisi. |
| » » | 110 | 0,10 | 1 (circa) | » 5 | Il sangue risente l'azione anticoagulante del peptone, come quando è estratto pochi minuti dopo la iniezione. |
| » » | 90 | 0,10 | 1 | » 9 | Coagulazione leggermente ritardata (45' dopo l'estrazione) però quasi completa: fibrinolisi scarsa, appena accennata. |

(In queste esperienze, come anche nelle altre, per essere più sicuro di mantenere, per quanto è possibile, la dose esatta di gr. 0,50 per kg. di animale, ho adoperato una soluzione di peptone al 10 %, facendo le iniezioni con una siringa di *Pravaz:* questa, piena, veniva a contenere 10 centigr. di peptone, e

quindi ogni decimo di siringa ne conteneva un centigr.; in questo modo, siccome la proporzione di mezzo grammo di peptone per kg. di animale, corrisponde a quella di 1 centigr. per ogni 20 gr., è facilissimo, conoscendo il peso dell'animale, determinare con un errore minore di $^1/_{20}$, il numero di centigrammi da iniettarsi in ogni singolo caso).

*Azione del propeptone in vitro.*

È positiva, e si verifica per le stesse dosi che *in vivo;* cioè se mettiamo in una provetta la stessa quantità di soluzione di peptone attiva in vivo, e in questa provetta lasciamo scolare dal cuore di un rospo tutto il sangue che ne può uscire (2-3 centimetri cubici, di rado 4-5), e agitiamo leggermente onde avvenga la mescolanza fra i due liquidi, vediamo che il sangue si mantiene incoagulabile, come dopo una iniezione di peptone.

L'incoagulabilità, in vitro, si verifica fin nelle mescolanze di tre, quattro parti di sangue su una di soluzione di peptone (al 10 °/₀); in mescolanze meno ricche di peptone, si osserva, al solito, coagulazione ritardata e, per lo più, incompleta. (Vedi Tavola n. IV).

TAVOLA IV.

| Quantità di peptone | Quantità di sangue | Proporzione | Comportamento del sangue |
|---|---|---|---|
| 1 cc. di una soluzione al 10 °/₀ (10 centigrammi). | 2 centimetri cubici. | 2 : 1 | Incoagulabilità, come in seguito ad iniezioni della stessa dose. |
| 1 cc. della stessa soluzione (5 centigrammi). | 3 centimetri cubici. | 3 : 1 | Come nel caso precedente. |
| ¹/₂ cc. della stessa soluzione (5 centigrammi). | 2 centimetri cubici. | 4 : 1 | Idem. |
| ¹/₂ cc. della stessa soluzione (5 centigrammi. | 2 centimetri cubici. | 6 : 1 | Coagulazione poco ritardata e quasi completa. |

*Azione del propeptone in vivo*
*dopo la soppressione della funzione epatica.*

Per ottenere la soppresione della funzione epatica io ho proceduto in due modi: legatura in massa di tutti gli organi che vanno all'ilo del fegato, vasi sanguigni e linfatici, dotti biliari, nervi, oppure asportazione di tutto il fegato, tagliando fra doppia legatura i vasi epatici e gli altri annessi. Praticavo quindi l'iniezione nel solito modo, variando dose, ed estraevo dal cuore il sangue. Queste esperienze, ripetute più volte, hanno portato sempre allo stesso resultato, cioè che l'azione anticoagulante del propeptone non viene affatto soppressa o diminuita dalla asportazione del fegato, anzi in alcuni casi il propeptone si mostra efficace anche in dosi, che sono inattive in rospi ai quali il fegato non sia stato tolto; e questo fatto mi pare possa venire collegato coll'altro, della differenza fra la dose minima attiva nelle iniezioni praticate nella vena ipogastrica e la dose minima attiva nelle iniezioni endocardiche.

Nel rospo adunque l'azione anticoagulante del propeptone non è affatto dipendente o in rapporto colla funzione epatica, a differenza di quanto succede nel cane, nel quale l'azione del peptone non è possibile che a condizione che esso attraversi il fegato.

Nella Tavola n. V sono riportate alcune delle esperienze intorno a questo proposito: in tutte queste esperienze, la presa di sangue veniva fatta appena cessata l'azione inibitrice del peptone e tornato il cuore a pulsare come di norma, onde non ho segnato nella Tavola l'ora della iniezione e l'ora della presa variando l'intervallo, come già ho detto, da 5 a 15-20 minuti.

TAVOLA V.

| Animale | Peso | Dose iniettata | Proporzione per Kg. | Modalità della operazione | Comportamento del sangue |
|---|---|---|---|---|---|
| | gr. | cgr. | gr. | | |
| Bufo vulgaris | 100 | 10 | 1 | Legatura in massa degli organi dell'ilo del fegato. | Come nei rospi non disepatizzati, dopo la iniezione di una dose attiva di peptone. |
| Bufo vulgaris | 100 | 10 | 1 | Asportazione totale del fegato. | Come nella esperienza precedente. |
| Bufo vulgaris | 100 | 5 | 0.50 | Come nella esperienza precedente. | Idem. |
| Bufo vulgaris | 100 | 5 | 0.50 | Idem. | Idem. |
| Bufo vulgaris | 110 | 5 | 0.45 | Idem. | Idem. |
| Bufo vulgaris | 100 | 4 | 0.40 | Idem. | Il sangue coagula, però con un ritardo notevole e parzialmente. |
| Bufo vulgaris | 100 | 4 | 0.40 | Idem. | Il sangue non coagula, e si divide nei soliti tre strati; alla fine del 2° giorno coagula lo strato dei leucociti. |
| Bufo vulgaris | 90 | 3 | 0.35 | Idem. | La coagulazione avviene, ma ritardata (dopo 5 ore) e parziale. |

*Azione in vivo del plasma di peptone.*

È positiva per iniezioni di un centimetro cubico in rospi di 100 gr., cioè nel rapporto di 10 centimetri cubici per Kg. di animale; ha quindi la stessa efficacia d'una soluzione di peptone al cinque per cento.

In seguito ad una iniezione endocardica in tali dosi di plasma di peptone (di rospo), il sangue si mantiene incoagulabile precisamente come dopo l'iniezione di una dose attiva di peptone. Iniettando il plasma di peptone in dosi minori, il sangue coagula, ma in ritardo e parzialmente: non ho mai osservato la fibrinolisi.

Degno di nota è il fatto che il plasma di sangue di peptone non ha alcuna azione d'arresto sui moti cardiaci: il peptone dunque passando pel sangue di rospo mantiene assai bene la sua azione anticoagulante (che viene solo di poco diminuita), perde invece affatto l'azione inibitrice sugli impulsi cardiaci.

(Mi sembra superfluo il dire che per avere il siero di peptone, iniettavo prima in due o più rospi una dose attiva di peptone, ne ricavavo il sangue, che lasciavo riposare e dividersi nei suoi strati, e decantavo quindi il siero).

TAVOLA VI.

| Animale | Peso | Dose | Proporzione per Kg. | Comportamento del sangue |
|---|---|---|---|---|
| Bufo vulgaris | gr. 100 | 2 centimetri cubici | 20 centimetri cubici. | Non coagula. |
| » » | 90 | 1,3 centimetri cubici | 15 centimetri cubici. | Idem. |
| » » | 100 | 1 cc. | 10 cc. | Idem. |
| » » | 80 | 0,8 cc. | 10 cc. | Idem. |
| » » | 100 | 0,5 cc. | 5 cc. | Il sangue estratto è meno fluido della norma: dopo 1 ora comincia la coagulazione, che però non avviene completamente. |
| » » | 100 | 0,5 cc. | 5 cc. | Come nella esperienza precedente. |

Nella Tavola n. VI, inserita a pag. 385, sono riportate alcune delle esperienze fatte sull'azione del plasma di peptone: in esse fra l'iniezione e la presa di sangue l'intervallo è di pochi minuti.

*Ricerche sulla immunità.*

Come è noto, nel cane e anche negli uccelli, una iniezione di una dose efficace o no di peptone, immunizza l'animale contro l'azione di una seconda iniezione, purchè l'intervallo fra esse non superi un certo limite di tempo (20-24 ore). Io ho voluto ricercare se lo stesso fatto dell'immunità avviene anche nei rospi, ed a questo scopo ho fatto tutta una serie di esperienze. Sapendo che la durata massima dell'azione del peptone, anche per dosi forti (1 gr. per Kg. di animale) non supera mai le nove-dieci ore, ho pensato che se la immunità esisteva, doveva manifestarsi solo a condizione che l'intervallo fra le due iniezioni non superasse tale durata; perciò nelle esperienze fatte, ho cominciato dal fare seguire ad una iniezione efficace un'altra iniezione pure efficace ad intervalli differenti, di nove-sette-cinque-tre-due-una ora e anche mezz'ora: ebbene, non ho mai trovato l'immunità: la seconda iniezione agisce sempre in modo affatto identico alle iniezioni uniche. Allora in esperienze successive ho fatto una prima iniezione inefficace, e le altre efficaci, cogli intervalli sopra detti. Il resultato è stato uguale.

Ho provato allora ad iniettare una dose efficace in più volte, due o tre e, dopo un'intervallo diverso, nei varii casi, fare una seconda iniezione efficace tutta insieme, e quindi estrarre il sangue: anche in queste condizioni sperimentali l'immunità non si è mai verificata: il sangue si è mantenuto sempre incoagulabile.

Tutte queste esperienze sono riportate nella Tavola n. VII.

TAVOLA VII (1).

| Animale | Peso | Dose iniettata la 1ª volta | Proporzione per kg. | Intervallo fra la 1ª e 2ª iniezione | Comportamento del sangue |
|---|---|---|---|---|---|
| | gr. | gr. | gr. | | |
| Bufo vulgaris | 100 | 0,05 | 0,50 | ore 9 | Il sangue si mantiene liquido: dopo circa 3 ore è già avvenuta la separazione nei tre strati. Dopo 2 giorni e mezzo avviene la coagulazione nello strato dei leucociti. |
| » » | 120 | 0,06 | 0,50 | » 7 | Come nella esperienza precedente. |
| » » | 100 | 0,05 | 0,50 | » 5 | Idem. |
| » » | 90 | 0,05 | 0,50 | » 3 | Idem. |
| » » | 95 | 0,05 | 0,50 | » 2 | Idem. |
| » » | 100 | 0,05 | 0,50 | » 1 | Idem. |
| » » | 100 | 0,05 | 0,50 | » 0,30′ | Idem. |
| » » | 100 | 0,02 | 0,20 | » 9 | Il sangue si comporta sempre come dopo una unica iniezione efficace. |
| » » | 90 | 0,02 | 0,20 | » 7 | Come nella esperienza precedente. |

(1) Non ho segnata la dose della 2ª iniezione perchè questa è sempre una dose efficace, in proporzione di gr. 0,50 per kg.

TAVOLA VII bis (1).

| Animale | Peso | Dose della 1ª iniezione | Proporzione per kg. | Intervallo fra la 1ª e 2ª iniezione | Comportamento del sangue |
|---|---|---|---|---|---|
| | gr. | gr. | gr. | | |
| Bufo vulgaris | 100 | 0,02 | 0,20 | ore 5 | Come nelle esperienze precedenti. |
| » » | 105 | 0,02 | 0,20 | » 3 | Idem. |
| » » | 90 | 0,02 | 0,20 | » 2 | Idem. |
| » » | 95 | 0,02 | 0,20 | » 1 | Idem. |
| » » | 100 | 0,02 | 0,20 | » 0,30′ | Idem. |
| » » | 110 | gr. 0,05 iniettati in due volte, alla distanza di 25′. | | » 1 | Il sangue si mantiene sempre incoagulabile come dopo una unica iniezione attiva. |
| » » | 120 | gr. 0,06 iniettati in due volte, alla stessa distanza. | | » 2 | Idem. |
| » » | 90 | gr. 0,05 iniettati in due volte, alla distanza di 40′. | | » 4 | Idem. |
| » » | 140 | gr. 0,07 iniettati in tre volte, ogni 15′. | | » 4 | Idem. |

(1) Anche in questa tavola non ho segnata la dose della 2ª iniezione perchè questa è sempre una dose efficace, in proporzione di gr. 0,50 per kg.

*Esame microscopico del sangue di peptone.*

In questo ordine di ricerche mi sono dovuto limitare all'esame delle modificazioni qualitative e numeriche dei soli globuli rossi, per ragioni che dico fra poco: per la loro determinazione numerica prima e dopo l'iniezione di peptone, ho adoperato l'apparecchio *Thoma Zeiss*, il cui uso è oggi troppo noto, perchè io ne debba dare qui una spiegazione particolareggiata.

Il sangue normale, tanto di *Bufo vulgaris* che di *Bufo viridis* è poverissimo di globuli rossi, e fra i due il più povero è il *Bufo vulgaris*. In nessuno dei due però il numero degli eritrociti arriva ad essere un milione per millimetro cubo, ma oscilla fra i sei-sette-otto-novecento mila; perciò anche facendo l'esame con un ingrandimento non molto forte (obiettivo 6, oculare 1) in ogni campo microscopico appaiono solamente trenta, quaranta, cinquanta globuli rossi, e bisogna mutare parecchie volte il campo prima di arrivare a vedere un leucocita: in tali condizioni si capisce come debba riuscire difficilissimo, seppure non addirittura impossibile, determinare il numero dei leucociti per ogni millimetro cubo. Il sangue di peptone poi apparisce ancora molto più povero di globuli rossi; il numero di questi scende talvolta di poco, talvolta si riduce alla metà ed anche ad un terzo del normale: affatto impossibile perciò riesce il conteggio dei globuli bianchi, giacchè in ogni campo microscopico (con un ingrandimento uguale a quello che aveva servito per l'esame del sangue normale) non si vedono più di 20-30 globuli rossi. Il peptone esercita dunque sui globuli rossi una azione distruttrice molto forte e che porta ad una notevolissima diminuzione del loro numero; di un grado molto più lieve sono invece le alterazioni morfologiche che i globuli rossi stessi subiscono in seguito ad una iniezione di peptone; infatti la maggior parte di essi conserva la forma e la grandezza normali, altri, in piccolo numero, appariscono più granulosi, più piccoli, retratti.

TAVOLA VIII.

| Animale | Numero dei globuli rossi per millimetro cubo | |
|---|---|---|
| | Sangue normale | Sangue peptonizzato |
| Bufo vulgaris..... | 839344 | 438462 |
| Bufo vulgaris..... | 957446 | 331282 |
| Bufo vulgaris..... | 895496 | 547184 |
| Bufo vulgaris..... | 685712 | 439286 |
| Bufo vulgaris..... | 597638 | 154839 |
| Bufo vulgaris..... | 807914 | 492187 |
| Bufo vulgaris ..... | 927514 | 512796 |
| Bufo vulgaris..... ..... | 824732 | 487658 |

*Coagulazione spontanea e acquisita del plasma di peptone.*

Il plasma di sangue di peptone spontaneamente non coagula affatto, ma rimane costantemente liquido, quasi come acqua, onde durante la putrefazione, che compare assai tardi — al 4° o 5° giorno — la coagulazione non ha luogo. Resiste molto anche ai mezzi che rendono la coagulabilità al sangue peptonizzato di cane: così, se attraverso al plasma ricavato dal sangue peptonizzato di rospo facciamo gorgogliare una corrente di $Co^2$, anche per lungo tempo (20-30-50 minuti) la coagulazione non avviene, nè subito nè tardivamente.

Inutile del pari riesce l'acidificazione. Il plasma di peptone del sangue di rospo ha reazione manifestamente alcalina; se noi la rendiamo acida, il plasma rimane incoagulabile come prima, in modo permanente. Solamente l' acqua distillata, aggiunta al siero in parti uguali ha la proprietà di rendergli la coagulabilità; appena avvenuta la mescolanza, questa si fa tosto più densa, e in capo a circa dieci minuti, si ha la coagulazione

completa, che permette di capovolgere la provetta, senza che si versi una goccia di liquido.

Non solo il plasma, ma anche il sangue di peptone, addizionato con acqua distillata in parti uguali, coagula rapidamente. Invece, al pari del plasma, pure il sangue di peptone, acidificato, rimane incoagulabile. Se l'acidificazione è stata forte, i globuli rossi si disfanno, e sul fondo della provetta si deposita una massa brunastra, di una consistenza che rammenta un po' la consistenza cretacea, ma meno dura.

* * *

Avendo ora finito di esporre brevemente le esperienze e le ricerche da me fatte, intorno all'azione anticoagulante del peptone nel rospo, prima di riassumere, in poche parole, le conclusioni che da quanto ho fin qui detto si possono dedurre, voglio dire qualche cosa intorno alla

*Azione inibitrice del peptone sui movimenti cardiaci.*

Come ho accennato da principio, parlando delle iniezioni endocardiche di peptone, questo appena penetrato nell'interno del cuore, arresta come istantaneamente i moti del ventricolo: gli atrii continuano ancora per 1-2 minuti a contrarsi, ma sempre più debolmente, e finiscono coll'arrestarsi anche essi: appena avvenuta l'iniezione ventricolo e atrii rimangono come sfiancati per il brusco aumento del liquido nel loro interno; questo sfiancamento in parte diminuisce fin dal principio perchè, seguitando a contrarsi per un po' di tempo, (pur brevissimo), gli atrii, parte del liquido viene da essi aspirato e spinto nelle vene; sparisce poi del tutto quando il cuore torna a pulsare con la energia e la regolarità di prima.

Non in tutti i rospi l'azione inibitrice del peptone sul battito cardiaco, porta al medesimo resultato, come alla sua durata: questa varia a seconda della quantità di peptone iniettato, della robustezza degli animali, della stagione ecc.: certo, quanto minore è la quantità di peptone iniettata, quanto maggiore la robustezza dell'animale e migliore e più calda la tem-

peratura, tanto più breve è la durata dell' azione d' arresto del peptone; in alcuni dura solo quattro e tre minuti, in altri si protrae talvolta per 10-15-20 minuti. Dopo questo tempo i primi a ricominciare a contrarsi sono gli atrii, il che indica probabilmente che questi meno del ventricolo risentono l' azione d' arresto del peptone. Dopo qualche minuto comincia a contrarsi anche il ventricolo prima in modo debole e irregolare, poi in modo sempre più energico e regolare finchè in capo a tre, cinque minuti le contrazioni cardiache sono tornate del tutto normali. Durante il periodo di immobilità del cuore, l' animale appare come morto, e poco reagisce agli stimoli; la respirazione è sospesa; solo di tanto in tanto avviene qualche atto respiratorio superficialissimo e l' animale fa qualche atto di deglutizione; spesso il ritorno dei moti del cuore è preceduto da energiche contrazioni di tutto il corpo.

Da che dipende questa azione d' arresto del peptone? Dalla soverchia distensione meccanica del cuore, no certamente, perchè l' iniezione di una uguale quantità di un altro liquido, per esempio, di soluzione fisiologica di ClNa, o di plasma di peptone o di peptone stesso trattato prima in vitro col succo epatico, non esercita sul cuore nessuna azione inibitrice. Si potrebbe pensare che si trattasse di un fatto riflesso, cioè che venissero irritati i nervi pneumogastrici e che questi arrestassero i moti cardiaci: l' essere sospesi anche i moti respiratori, starebbe in favore di questa ipotesi; ma l' esperienza dimostra che così non è; iniettando il peptone nel cuore di rospo dopo avere tagliato i nervi vaghi, si verifica il suo arresto come quando i vaghi erano illesi. Bisogna dunque ammettere che il peptone agisca direttamente sul miocardio, paralizzandolo: per dimostrare ciò ho asportato il cuore ad un rospo, tagliando tutti i vasi che vanno ad esso e da esso partono e, per mezzo di una siringa del *Pravaz*, vi ho iniettato un po' di soluzione di peptone: i fatti che si verificano, sono gli stessi di quando il cuore è ancora unito all' organismo; si arresta immediatamente il ventricolo, quindi gli atrii; però, in queste condizioni, il cuore non torna più a battere, ma resta immobile persistentemente. Se invece in un cuore di rospo staccato dal corpo, iniettiamo

una soluzione fisiologica di cloruro di sodio, esso continua a pulsare in modo affatto normale. Io ho voluto spingere la esperienza ancora più in là: asportato un cuore, lo ho tagliato in più pezzetti, questi lasciati a sè o bagnati con una soluzione fisiologica di ClNa continuavano a contrarsi; bagnati con una soluzione di peptone si arrestavano immediatamente.

In base a queste esperienze che, ripetute pù volte, mi hanno dato sempre i medesimi resultati, io credo si possa ammettere che il peptone agisca direttamente sulle fibro-cellule del miocardio.

*Conclusione.*

Da quello che ho detto fin qui si possono trarre le seguenti conclusioni riguardo all'azione del peptone sul sangue di rospo:

I. Il peptone, venuto a contatto col sangue circolante, ne impedisce costantemente e permanentemente la coagulazione.

II. La dose minima attiva è di grammi 0,50 per kg. di animale.

III. Il rospo sopporta benissimo iniezioni di dosi anche molto elevate di peptone (gr. 3, per kg.).

IV. Il sangue di peptone anche se venuto a contatto di tessuti, rimane incoagulabile.

V. L'azione anticoagulante del peptone, iniettato in circolo, ha una durata assoluta che arriva fino a tre-quattro, cinque ore, a seconda della dose iniettata, ed una durata relativa che non va al di là di nove-dieci ore. Il sangue estratto con un intervallo maggiore di nove-dieci ore dopo l'iniezione coagula come il sangue normale.

VI. L'azione anticoagulante del peptone si manifesta anche *in vitro*, alle stesse dosi che nel sangue circolante, cioè fino alla proporzione di 4 parti di sangue per una di peptone, in soluz. al 10 %.

VII. L'azione anticoagulante del peptone nel sangue circolante si manifesta anche dopo l'asportazione del fegato dell'animale, e alle stesse dosi; in qualche caso anche in dosi leggermente minori.

VIII. Il plasma ricavato dal sangue di peptone (di rospo),

esercita al pari del peptone una azione anticoagulante, nella proporzione di 10 cc. per kg. di animale.

IX. Una iniezione di peptone, attiva o no, non immunizza mai il rospo contro una seconda iniezione attiva, qualunque sia l'intervallo fra le due iniezioni.

X. Non esistono rospi refrattari nè in via spontanea nè in via acquisita all'azione del peptone.

XI. Il plasma di peptone, incoagulabile spontaneamente, coagula se addizionato in parti uguali ad acqua distillata. Non coagula nè per l'acidificazione — il plasma di peptone ha reazione alcalina — nè per il passaggio anche prolungato attraverso ad esso di una corrente di $Co^2$.

Come risulta evidente da queste conclusioni, il peptone agisce nel rospo in un modo affatto differente da quello con cui agisce nel cane, nel gatto, negli uccelli: in questi animali la sua azione è intimamente legata alla funzione epatica, nel rospo invece fra l'azione del peptone e la funzione epatica non c'è alcun legame, anzi esiste quasi un lieve antagonismo; infatti l'azione del peptone si esplica spesso con minori dosi negli animali disepatizzati che in quelli che hanno ancora il fegato.

Questa indipendenza della azione del peptone dalla funzione epatica, sta benissimo d'accordo con la mancanza della immunità; si potrebbe dire anzi che, dato il primo fatto, si poteva prevedere il secondo. Infatti, come si spiega l'immunità nel cane? Ammettendo che il fegato trasformi il propeptone (della prima iniezione) nella sostanza anticoagulante o, secondo altri, produca sotto la sua influenza, tale sostanza, e che, in seguito a questo, diciamo, *surménage*, rimanga per un certo tempo impossibilitato a produrre di nuovo; allora, una iniezione che venga fatta in questo tempo, riesce inattiva. In altre parole dunque l'immunità dipende dal legame che passa fra azione del peptone e funzione epatica. Perciò nel rospo, in cui tale legame manca, riesce di facile spiegazione la mancanza pure dell'immunità.

L'azione del peptone — nel rospo — si ravvicina moltissimo all'azione dell'estratto di sanguisuga; ambedue sospendono la coagulazione del sangue sì *in vivo* che *in vitro*, e alle

stesse dosi; l'uno e l'altro, iniettati una volta non immunizzano il sangue contro una seconda iniezione; nell'uno e nell'altro la durata dell'azione è proporzionata alla dose iniettata. Si potrebbe dunque pensare che, al pari dell'estratto di sangue, il peptone — nel rospo — agisca direttamente sulla coagulazione del sangue impedendo la formazione del fermento o la sua azione o anche distruggendolo: il non aver potuto riconoscere quali alterazioni, specialmente numeriche, apporti il peptone ai leucociti, impedisce di far luce su questo quesito che, almeno per ora, rimane insoluto.

Per terminare, dirò alcune parole su poche esperienze fatte intorno all'azione del peptone sulle tartarughe (*Emys europea*): il peptone usato era lo stesso, e lo iniettavo nella vena giugulare; estraevo quindi il sangue dal cuore. Anche in questi animali ho constatato che il peptone impedisce o almeno ritarda notevolmente la coagulazione del sangue; la dose iniettata variava da 20 a 50 centigrammi di peptone sciolto in una soluzione fisiologica di ClNa.

Sarebbe molto interessante vedere se anche le tartarughe si comportano di fronte al peptone come i rospi e se, in genere, gli animali pecilotermi rispondono al peptone in una maniera tanto differente dagli animali omootermi: questo argomento sarà l'oggetto di ricerche che spero fare quanto prima.

Non posso qui tralasciare di porgere le mie più sentite grazie al chiarissimo prof. *Fano*, il quale con vera benevolenza, mi è sempre stato largo di consigli e di aiuto, a miglior riuscita di queste mie ricerche.

**Bibliografia.**

1880. Schmidt-Mülheim, Beitrage zur Kenntniss des Peptons und seiner phisiologischen Bedeutung. (A. P., pag. 33).

1880. Albertoni, Ueber die Peptone. (Centralbl. f. med. Wiss., N. 32).

1881. Fano. Das Verhalten des Peptons und Tryptons gegen Blut und Lymphe. (A. P., pag. 277).

—— Beitrage zur Kenntniss der Blutgerinnung. (Centralbl. f. med. Wiss., pag. 210).

1882. Fano, Della sostanza che impedisce la coagulazione del sangue e della linfa peptonizzata. (Lo Sperimentale, Maggio).

1892. Salvioli (Y). Sur le modifications du sang par l'effect de la peptone et des ferments solubles. (A. I., B. XVII, pag. 155).

1892. GROSJEAN, Recherches sur l'action physiologique de la propeptone et de la peptone. (Arch. de Biol., pag. 381).

1893. LEDOUX, Recherches comparatives sur l'action physiologique des substances suspendant la coagulation. (Travaux du labor. du Léon Fredericq, IV, pag. 45).

1895. CONTEJEAN, Recherches sur les injections intraveineuses de peptone et leur influence sur la coagulabilité du sang chez le chien. (Bull. de Biologie, XLVII, pag. 93).

1895. GLEY et PACTON, Du rôle du foie dans l'action anticoagulante de la peptone. (Compt. Rend., CXXI, pag. 383).

1895. ID., Influence des variations de la circulation lymphatique intrahepatique sur l'action anticoagulante de la peptone (A. P. (5) VII, pag. 711).

1895. ID., Influence de l'extirpation du foie sur l'action anticoagulante de la peptone. (Bull. Biol., XLVII, pag. 741).

1895. WERTHEIMER et DELEZENNE, De l'obstacle apporté par la placenta au passage des substances anticoagulantes. (Bull. Biol., XLII, pag. 191).

1896. ARTHUS, La coagulation du sang et les sels de chaux. (A. P., VIII, pag. 47).

1896. ATHANASIU et CARVALLO, L'action de la peptone sur les globules blancs du sang. (Bull. Biol., III (10), pag. 328).

1896. ID., La propepton comme l'agent anticoagulant du sang. (Bull. Biol., III (10), pag. 526).

1896. CAMUS et GLEY, Note concernant l'action anticoagulante de la peptone sur le sang, comparativement *in vitro* et *in vivo*. (Bull. Biol., III (10), pag. 621).

1896. ID., Sur l'augmentation des globules rouges du sang, à la suite des injections intraveineuses de peptone. (Idem, pag. 786).

1896. CONTEJEAN, Rôle du foie dans l'action anticoagulante des injections intravasculaires de peptone chez le chien. (Bull. Biol., III (10), pag. 755).

1896. ID., Influence du systeme nerveux sur la propriète que possedent les injections intraveineuses de peptone de suspendre la coagulation du sang chiez le chien. (A. d. P., VIII (5), pag. 159).

1896. DELEZENNE, Formation d'une substance anticoagulante par la foie en presence de la peptone. (C. R., CXXII, pag. 1072).

1896. GLEY, Action de la propeptone sur la coagulabilité du sang du lapin. (Bull. Biol., III (10), pag. 658).

1896. GLEY et PACHON, Influence du foie sur l'action anticoagulante de la peptone. (Bull. Biol., III (10), pag. 523).

1896. THOMPSON, Contribution to the physiological effects of peptone, when injected into the circulation. (Journ. of Physiol., XX, pag. 405).

1900. SPANGARO, Azione anticoagulante del peptone sul sangue degli uccelli. (Lo Sperimentale, Maggio).

Istituto di Patologia generale di Firenze, diretto dal Prof. A. Lustig.

# SULLE MINUTE ALTERAZIONI DEL PANCREAS
## CONSECUTIVE ALLA LEGATURA DEL CONDOTTO DI WIRSUNG.

**DOTT. N. TIBERTI**
Aiuto.

(Con una tavola a colori.)

### I. — Scopo delle mie ricerche e cenni sui fenomeni secretori nel pancreas.

Le alterazioni morfologiche del pancreas consecutive alla legatura del condotto di *Wirsung* sono state oggetto di studio da parte di molti ricercatori.

Già nel 1878 *Pawlow* studiò gli effetti della legatura del condotto escretore del pancreas nel coniglio. Egli osservò che la sede delle maggiori lesioni, almeno in primo tempo, era il connettivo interlobulare ed interacinoso. In questo notavasi dapprima una infiltrazione abbondante di leucociti; in seguito esso assumeva i caratteri del connettivo adulto. Nei primi giorni dopo la legatura si aveva dilatazione notevole dei dotti escretori visibile ad occhio nudo: successivamente le pareti di essi si ispessivano. Per la neoformazione connettivale gli acini pancreatici venivano compressi e gradatamente la glandola si atrofizzava. Man mano che questa atrofia si svolgeva, gli elementi cellulari si riducevano di volume: la zona granulosa di essi si rimpiccioliva e solo si scorgevano pochi granuli, che, almeno in parte, non erano identici a quelli che si osservano nella zona interna delle cellule normali, e ciò perchè questi ultimi si sciolgono in tracce di alcali, mentre i primi no.

Lo stato d'infiammazione cronica che si osserva nel pancreas e che è del tutto analoga a quella osservata da *Charcot* nel fegato, non è spiegabile, secondo *Pawlow*, col solo fatto della compressione da stasi, ma dipende forse dalla natura del secreto, che agirebbe da stimolo infiammatorio, alla stessa guisa che la bile.

Le ricerche successive di *Arnozan* e *Vaillard* e quelle di *Mouret* non modificarono gran fatto le conclusioni cui era giunto *Pawlow*. *Mouret* inoltre ottenne gli stessi effetti colla iniezione di olio nel canale di *Wirsung*.

Nel 1891 *Vassale* riprese lo studio delle alterazioni consecutive alla legatura del condotto wirsungiano, osservando ipertrofia eccentrica di questo e delle sue ramificazioni, atrofia delle cellule pancreatiche, presenza di figure cariocinetiche negli elementi ghiandolari e negli elementi fissi del connettivo. Come esito finale osservò una pancreatite indurativa con atrofia e consecutiva scomparsa degli acini pancreatici.

Col ripetere le esperienze sulla legatura del condotto escretore del pancreas, io mi sono proposto di studiare più intimamente e coi metodi più perfetti che la tecnica mette a nostra disposizione le alterazioni secretorie delle cellule pancreatiche, essendo noto che i fenomeni secretori sono di singolare importanza negli elementi cellulari in genere e in quelli ghiandolari in specie.

Premetto che io mi sono occupato esclusivamente di ciò che accade nel tessuto zimogenico della glandola, ed ho lasciato da parte la questione ancora dibattuta delle isole di *Langerhans*, che debbono considerarsi, a quanto risulta dalle accurate ricerche del *Diamare*, non come il prodotto di una derivazione o metamorfosi che si svolga nel tessuto ghiandolare durante la vita autonoma, ma delle vere e proprie ghiandole a secrezione interna, in rapporto forse colla economia dello zucchero nell'organismo animale. Molto si è discusso sul vero significato di queste isole e il modo di comportarsi di esse, rispetto alla legatura del condotto di *Wirsung*, potrebbe costituire un interessante argomento di studio a sè, come già hanno fatto *Ssobolew* e *Mankowski*.

Il pancreas appartiene a quella categoria di ghiandole le cui cellule producono delle sostanze che esse stesse hanno elaborato per una speciale attività del protoplasma, il quale utilizza il materiale greggio che ad esso viene apportato. La secrezione di questa ghiandola, come quella di altri organi ghiandolari, risulta di una parte solida ed una liquida. La secrezione solida è rappresentata da una serie di granuli più o meno voluminosi, disposti in varia guisa entro il protoplasma ed il nucleo.

*Heidenhain* per il primo descrisse nella cellula pancreatica due zone, di cui una esterna di aspetto omogeneo, e l'altra interna gremita di granuli. A questi si attribuì grande importanza nei fenomeni secretori delle cellule ghiandolari, anche per gli studi ulteriori di *Teraskievicz*, di *Pflüger*, di *Ash*, di *von Ebner*, di *Nussbaum* ecc. Le vedute di questi autori ebbero una valida conferma dalle osservazioni di *Kühne e Lea* sulle cellule viventi del pancreas di coniglio. Essi videro che le granulazioni sono animate da movimenti nell'interno del protoplasma e che dalla parte centrale di questo si portano all'estremo della cellula, che guarda il lume dell'acino, ove sembrano sparire.

A questi granuli, che si riscontrano nell'interno delle cellule, fu dato il nome di *granuli di zimogene* e furono accuratamente studiati in diversi organi ghiandolari da *Nicolas*, *Ogata*, *Langerhans*, *Laguesse*, *Leon* e *Theoari*, *Trambusti* e *Ferrari* ecc.

Non vi è accordo fra gli Autori circa il punto di origine di questi granuli. Secondo alcuni, essi avrebbero origine dal protoplasma delle cellule, nella cui parte basale esiste una zona risultante dalla riunione di filamenti, ai quali si vorrebbe attribuire un gran valore nella elaborazione dei materiali solidi della secrezione, per il fatto che mentre sono molto evidenti quando la cellula ghiandolare è in stato di riposo, diventano appena visibili nello stato di attività della cellula stessa.

Altri autori ritengono che non sia una determinata porzione del protoplasma quella che prende parte attiva al processo secretivo, ma che tutto il protoplasma entri in funzione e, per trasformazioni chimiche delle sue molecole, vada a costi-

tuire i prodotti secretori. Per elaborare questi ultimi il protoplasma andrebbe incontro ad una totale o parziale distruzione, cui verrebbe poi riparato per processi reintegrativi.

Anche il nucleo prende parte attiva nella formazione dei granuli, nel senso che, secondo alcuni osservatori, prolungamenti o ramificazioni nucleari si spingono verso le parti delle cellule, ove è più intensa la formazione dei prodotti secretori, e cedono al citoplasma sostanze destinate a tali prodotti.

*Lukianow* osservò in epiteli di salamandra il passaggio di elementi dal nucleo nel protoplasma cellulare. Secondo *Trambusti* e *Galeotti*, la prima elaborazione dei granuli avviene nel nucleo, donde poi passano nel citoplasma, emigrando verso la parte della cellula che corrisponde al lume ghiandolare.

Per quel che riguarda la secrezione di elementi liquidi, questa si manifesta colla formazione di vacuoli, che, piccoli dapprima, ingrandiscono successivamente, fino a raggiungere il massimo volume nel periodo della maggiore attività secretiva. Cessata la secrezione e ritornata la cellula allo stato di riposo, il protoplasma riprende il suo aspetto omogeneo. I granuli non si trovano giammai nell'interno dei vacuoli, che hanno costantemente un volume superiore a quello dei granuli, sicchè essi non possono essere interpretati come spazi lasciati liberi dalla caduta delle granulazioni. Queste si trovano sempre nei punti di intersezione della rete limitante i vacuoli stessi.

## II. — Metodi di ricerca.

Le mie esperienze sono state eseguite sul coniglio, nel quale la sostanza pancreatica è come sparsa in arborizzazioni delicatissime tra i foglietti del mesenterio. Il condotto principale, che risulta dalla riunione di più rami secondari, è molto evidente e si lega colla massima facilità a differenza di ciò che si verifica nel cane, in cui, essendo il pancreas intimamente aderente al duodeno, è alquanto difficile isolare i dotti escretori e per far ciò conviene sempre lacerare la sostanza ghiandolare.

Nel coniglio il condotto di *Wirsung* si apre nella porzione ascendente dal duodeno, a distanza di 30-50 cent. dall'orificio pilorico. Qualche volta esiste un altro piccolo condotto che sbocca nel coledoco o molto vicino ad esso. Questo condotto molte volte sfugge per la sua estrema piccolezza.

L'atto operatorio era praticato nel modo seguente: fissato l'animale sul tavolo operatorio, previa rasura di peli ed accurata antisepsi della parte, si faceva una incisione a 3 cm. circa dalla linea mediana e parallelamente a questa, subito al disotto dell'arco costale destro. Incisa la pelle, i muscoli ed il peritoneo, ordinariamente si cadeva sul duodeno, che veniva estratto dal cavo peritoneale. Trovato il condotto escretore, il che per solito non offre alcuna difficoltà, veniva strettamente legato con un filo di seta in prossimità del suo sbocco. Rimessa in posto l'ansa intestinale, si suturava per strati la ferita operatoria.

Tutti i conigli da me operati sopportarono benissimo l'operazione. Giammai si verificò diminuzione di peso negli animali. Ricercai costantemente il glucosio nelle urine, ma sempre con esito negativo, anche nei conigli uccisi dopo lungo tempo dalla legatura del condotto di *Wirsung*.

Uccisi i conigli a diversa distanza di tempo, da 24 ore a due mesi e mezzo dalla legatura. Fissai i frammenti in liquido di *Flemming* e adoperai sempre il metodo *Galeotti* per la colorazione dei granuli, metodo che ha su tutti gli altri il vantaggio di dare una colorazione molto precisa e di tingere anche le granulazioni più piccole, nei primi periodi della loro formazione. Il colorito rosso che assumono le granulazioni, per mezzo della fucsina, spicca molto bene sul verde, da cui è tinto il protoplasma per il verde di metile. Tale colorazione inoltre è rapidissima e bastano 10′ per compiere tutte le operazioni.

Il metodo *Galeotti*, che ebbe ormai larga applicazione, si eseguisce come appresso: fissazione in liquido di *Flemming* o di *Hermann;* lavaggio in acqua corrente per 5 o 6 ore, disidratazione in alcool, inclusione in paraffina. Le sezioni sottili da 3-6 μ vengono attaccate al vetrino con albumina glicerinata, indi si colorano a caldo con una soluzione satura di fucsina

acida in acqua di anilina. Lavaggio abbondante in acqua corrente. Si trasportano le sezioni in una soluzione satura idroalcoolica di acido picrico, con che viene decolorato il citoplasma degli elementi cellulari. Lavaggio in acqua corrente. Colorazione a freddo per qualche minuto in una soluzione alcoolica di verde di metile al $^1/_2$ $^0/_0$. Lavaggio in acqua distillata. Disidratazione rapida con alcool assoluto. Si rischiara con xilolo e si chiude in balsamo. Come si è detto, i granuli ed i nuclei rimangono tinti in rosso, il protoplasma si tinge in verde.

## III. — Risultati delle mie esperienze.

Nel pancreas di coniglio normale allo stato di attività secretiva (Tav. VII, Fig. 1) si notano una serie di acini strettamente aderenti gli uni agli altri, costituiti da cellule di forma per lo più piramidale, con citoplasma abbondante, che presenta un gran numero di vacuoli, i quali danno agli elementi cellulari un aspetto spugnoso. I limiti fra le singole cellule sono ben distinti. Nella parte della cellula rivolta verso il lume dell'acino si notano numerosi granuli di volume piccolo, tinti in rosso dalla fucsina: scarse granulazioni si osservano anche in prossimità del nucleo. Questo è in generale ovale o rotondo, respinto verso la parte periferica. La membrana nucleare ben distinta con qualche massa cromatica aderente alla superficie interna di essa; il reticolo cromatico è molto evidente: si scorgono due o più masse cromatiche nell'interno del nucleo, ove non si notano granuli.

Nel pancreas di coniglio, ucciso 24 ore dopo la legatura del condotto Wirsungiano (Tav. VII, Fig. 2), le cellule appariscono alquanto rigonfie in guisa che riempiono tutto l'acino. I limiti fra cellula e cellula sono abbastanza distinti. Il nucleo è rotondo o ovale, generalmente idropico. Il carioplasma è omogeneo, colorabile in rossastro. Non si nota reticolo cromatico. Le masse cromatiche sono alquanto rigonfie, di forma rotondeggiante. Non si riscontrano granuli nel nucleo. Una enorme quantità di granuli si trova invece nel citoplasma. In alcune cellule questi granuli sono così abbondanti

da occupare tutto l'elemento cellulare e ricoprire il nucleo. Nella maggior parte questi granuli hanno un volume considerevole e contorni molto netti: altri granuli sono piccoli, altri appena visibili. Nell'insieme si nota quindi un ristagno dei prodotti di secrezione liquidi e solidi nell'interno delle cellule.

Nel pancreas, il cui condotto escretore fu legato per 48 ore, il citoplasma degli elementi cellulari non è così rigonfio come nel caso precedente; più rigonfio è il nucleo. I granuli sono più scarsi, ma sempre molto ben distinti.

Al 3° giorno la maggior parte degli acini ghiandolari sono dilatati; il lume centrale è ampliato; gli elementi cellulari hanno perduto il loro aspetto cuneiforme e sono diventati cubici, schiacciati. Tale schiacciamento è dovuto senza dubbio all'azione esercitata dal ristagno del secreto. I confini fra le cellule sono ben distinti. Il nucleo molto rigonfio, di varia forma, allungato, irregolare, respinto alla periferia della cellula. Evidente il reticolo cromatico: scarse le masse cromatiche. I granuli non appariscono più distinti, ma si presentano come una polvere rossastra che occupa specialmente la porzione della cellula corrispondente al lume dell'acino dilatato. In alcuni punti del citoplasma si vedono ancora dei granuli isolati che non hanno più la forma rotonda, ma si presentano allungati e a contorni irregolari. Nell'insieme quindi si nota il ristagno di un secreto liquido nelle cellule secernenti e la sospensione nella produzione di granuli.

Nel pancreas al 5° giorno dalla legatura del condotto di *Wirsung*, incomincia a notarsi infiltramento ed iperplasia del connettivo che divide i singoli acini, di guisa che questi non appariscono più ravvicinati gli uni agli altri, come nel pancreas normale, ma notevolmente allontanati. La dilatazione del lume centrale degli acini e dei condotti escretori apparisce più manifesta, e più evidente è lo schiacciamento delle cellule che li compongono ed il rigonfiamento dei nuclei. Anche nelle sezioni di questo pancreas non si riesce a mettere in evidenza le granulazioni.

Al 7° giorno dalla legatura del condotto escretore osser-

viamo più abbondante l'iperplasia del connettivo, costituito da fasci di fibre disposti irregolarmente ed intrecciantisi in vario senso fra loro. Fra le maglie di questo connettivo si riscontrano numerose cellule rotondeggianti, allungate, nel protoplasma delle quali esistono numerosi granuli che si tingono intensamente colla fucsina. Gli acini ghiandolosi sono allontanati gli uni dagli altri più che nel caso precedente. Essi sono in massima parte ridotti a cavità cistiche di volume maggiore o minore e di forma irregolare. Queste cisti sono costituite da una parete di cellule schiacciate con scarso protoplasma e nucleo rigonfio, povero di cromatina.

Altri acini sono rimpiccioliti, costituiti da una o due cellule che hanno conservato l'aspetto pressochè normale, e per il resto da cellule atrofiche, con protoplasma denso e nucleo raggrinzato o picnotico, coi caratteri insomma di elementi destinati a perire. Accanto a questi elementi si vedono nell'interno degli acini alcune cellule grandi, che hanno tutta l'apparenza di elementi giovani o, secondo una espressione che è stata di recente introdotta in citologia, di elementi sdifferenziati. Essi infatti hanno un citoplasma chiaro, omogeneo, senza particolare struttura e nucleo ricco di sostanza cromatica. Queste cellule che certamente provengono dagli elementi epiteliali del pancreas, poichè sono racchiuse nella membrana propria degli acini, non hanno più somiglianza colle cellule pancreatiche originarie e dotate della loro specificità. In alcuni elementi ghiandolari ed in alcune cellule fisse del connettivo si osservano figure cariocinetiche.

Dopo 12 giorni dalla legatura del condotto pancreatico notiamo ognora più abbondate l'iperplasia connettivale con numerose cellule connettivali e *Mastzellen*. Più marcata ancora l'ectasia dei dotti escretori. La maggior parte degli acini sono dilatati e costituiti di cellule aventi le forme più svariate ed irregolari. Altri acini sono straordinariamente rimpiccioliti, atrofici.

Le cellule sono come cosparse di una polvere rossastra, che sta a rappresentare i granuli alterati e disfatti. I nuclei degli elementi cellulari assumono le forme più varie in rapporto

col cambiamento di forma delle cellule, cambiamento di forma dovuto, come già si è detto, alla compressione degli elementi da parte del secreto ristagnante.

Al 20° giorno osserviamo, oltre la solita iperplasia connettivale, gli acini ridotti a cavità cistiche, rivestite da cellule appiattite, con nucleo voluminoso che fa sporgenza dalla cellula verso il lume dell'acino dilatato. Alcuni nuclei presentano quell'alterazione che è conosciuta col nome di *picnosi*, che sta ad indicare la dissoluzione della cromatina, senza che questa fuoriesca dal nucleo, in caso di idropisia del nucleo stesso. Un fatto degno di nota nelle sezioni di pancreas al 20° giorno dalla legatura del condotto Wirsungiano, è che in mezzo al connettivo iperplastico, accanto ad acini atrofici e notevolmente alterati e a dotti escretori fortemente dilatati, si trovano degli elementi cellulari disposti in guisa da costituire degli ammassi di forma rotondeggiante. Questi elementi, disposti in serie alquanto irregolari, presentano i caratteri più sopradescritti di cellule sdifferenziate. Alcuni di essi presentano figure di mitosi. In qualcuno di questi nidi cellulari si ha come un accenno a formazione di lume.

Nel coniglio ucciso dopo un mese dalla legatura del condotto di *Wirsung* risulta, già all'esame macroscopico, il forte grado di atrofia della ghiandola pancreatica. Essa è costituita da tanti noduli bianco grigiastri disseminati nel mesenterio. Da essi partono dotti escretori notevolmente dilatati, che si vedono benissimo per trasparenza. Il condotto escretore principale è enormemente dilatato, del volume circa di una penna d'oca, e ripieno di liquido acquoso. All'esame microscopico si nota un considerevole aumento di connettivo fra gli acini: questo connettivo è ricco di cellule. I vasi sanguigni sono dilatati, ispessiti, ripieni di sangue. I condotti escretori appariscono straordinariamente ectasici e rivestiti di cellule molto appiattite. L'aspetto cistico degli acini è più che mai evidente. Queste cisti sono rivestite da elementi cellulari appiattiti con scarso protoplasma e nucleo affatto privo di cromatina. Si ha cioè quell'alterazione del nucleo designata dai Tedeschi col nome di *Kernschwund*, dovuta probabilmente al

passaggio di correnti liquide attraverso nuclei alterati. In mezzo al connettivo iperplastico si nota ancora qualche acino piccolissimo, costituito da pochi elementi cellulari, con nucleo contenente ancora un resto di cromatina. Nel protoplasma di queste cellule si riesce a sorprendere ancora qualche raro granulo. La parete di questi acinetti è fortemente ispessita e senza dubbio essi sono da interpretarsi come acini atrofici. Oltre questi acini atrofici, ed altri trasformati in vere e proprie cavità cistiche notiamo ancora, sparsi nel connettivo, qualcuno di quei nidi cellulari isolati, sui quali abbiamo richiamata l'attenzione precedentemente. In alcuni di questi nidi cellulari si ha nel mezzo un piccolo lume.

Nell'ultimo pancreas da me esaminato il condotto di Wirsung fu tenuto legato per lo spazio di due mesi e mezzo, senza che il ricambio materiale del coniglio fosse apparentemente turbato. Anche in questo caso si nota ad occhio nudo una considerevole atrofia del pancreas e dilatazione del condotto escretore principale e dei dotti secondari. Microscopicamente il connettivo iperplastico si presenta coi caratteri del connettivo adulto. Gli acini e i dotti dilatati e rivestiti di cellule coi caratteri più volte descritti.

Di grande interesse in queste sezioni è il fatto che, accanto ad acini trasformati in cavità cistiche, troviamo degli acini aventi presso a poco la costituzione degli acini normali, risultanti cioè di cellule piramidali, con protoplasma omogeneo, a limiti ben netti, nucleo ricco di cromatina, con membrana nucleare distinta e granuli più o meno voluminosi, situati specialmente nella parte della cellula che guarda verso il centro dell'acino, ove esiste un piccolo lume ghiandolare. Di questi acini ne vediamo parecchi sparsi nel connettivo, in vicinanza di acini alterati. Alcuni di essi sono piccolissimi, quasi direi rudimentali, con caratteri però ben diversi dagli acini atrofici, riscontrati in altre sezioni; altri invece sono di volume considerevole (Tav. VII, Fig. 5). In continuazione dell'acino rappresentato dalla figura vediamo una serie di elementi cellulari disposti in fila e divisi da uno spazio, in guisa da dare l'immagine di un condotto escretore.

## IV. — Riassunto dei risultati e loro valore.

Nell'insieme i fatti da me osservati si possono così brevemente riassumere:

Per il ristagno del secreto negli acini, in conseguenza della legatura del condotto escretore, si ha l'atrofia e ulteriormente la distruzione di un gran numero di cellule pancreatiche. Fra queste cellule alcune conservano la loro vitalità mentre subiscono un processo di *sdifferenziazione*, perdono cioè le loro capacità specifiche e i caratteri della loro differenziazione e divengono elementi simili agli embrionali. Per opera di queste cellule incomincia la rigenerazione.

Tutto ciò è perfettamente consono con quello che è stato dimostrato avvenire per altre cellule altamente differenziate e specialmente per le fibre muscolari striate, in cui il primo momento della rigenerazione è caratterizzato dalla scomparsa della sostanza specifica funzionante e dalla riduzione degli elementi citologici muscolari in sarcoblasti, che ulteriormente si moltiplicano e riproducono fibre muscolari perfette.

Anche nel caso presente è dalle sopradette cellule sdifferenziate che si inizia il processo rigenerativo, poichè esse proliferando danno luogo ad elementi specifici di forma piramidale o poliedrica che si dispongono in acini, che nuovamente posseggono la capacità di produrre granuli di secrezione e che infine per nulla si distinguono dagli elementi pancreatici normali.

I fatti di rigenerazione che si verificano nel pancreas in seguito alla legatura del condotto escretore hanno perfetta analogia con quelli che hanno luogo nel fegato in seguito a cirrosi. Il processo rigenerativo, che in questi casi si verifica, non decorre con tanta chiarezza come allorquando si producono sperimentalmente estirpazioni parziali del parenchima epatico. La proliferazione delle cellule epatiche, oltrechè per processi cariocinetici, si verifica per processi amitotici.

Fatti rigenerativi furono descritti oltrechè per il fegato,

per i reni, per la tiroide, per i testicoli, per le ovaie, per la mucosa stomacale ed intestinale, per la mucosa uterina. *Fuchel* studiò la rigenerazione di interi lobuli nelle ghiandole salivari. Egli però non potè dimostrare se i lobuli neoformati fossero capaci di secernere.

È quindi logico ammettere che fatti rigenerativi si possano, anzi si debbano verificare nel pancreas in seguito ad un processo cirrotico, quale è quello che noi provochiamo mediante la legatura del condotto escretore. Quale infatti potrebbe essere il significato degli acini secernenti, che io ho ritrovato nell'ultimo pancreas se, non di lobuli pancreatici rigenerati?

Mal si comprenderebbe come in un pancreas, il cui condotto escretore fu legato per due mesi e mezzo, vi potessero essere tanti acini sfuggiti alle alterazioni consecutive alla legatura, in prossimità di acini così fortemente alterati, in mezzo ad uno sviluppo così abbondante di connettivo. Se ciò fosse, noi avremmo dovuto riscontrare la presenza di questi acini nelle sezioni di quei pancreas il cui dotto escretore fu tenuto legato per un tempo minore, non solo, ma in tali sezioni essi si sarebbero dovuti presentare in numero maggiore che non nel pancreas ultimo descritto. Invece sia nei pancreas nei quali la legatura datava da pochi giorni, sia in quelli nei quali risaliva a 20 giorni, un mese, non ci è accaduto di riscontrare questi acini neppure in scarso numero. Vedemmo nel pancreas con legatura del condotto per un mese, degli acini piccoli contenenti ancora qualche granulo, ma l'aspetto di essi era del tutto differente da quello degli acini riscontrati nel pancreas in questione: quelli avevano proprio l'aspetto di acini atrofici, questi invece hanno l'aspetto di acini nuovi.

## V. — Conclusioni.

Concludendo, dalle mie ricerche risulta che in seguito alla legatura del condotto di *Wirsung* nel coniglio si verifica dapprima nelle cellule pancreatiche una attiva ipersecrezione di granuli, cui rapidamente sussegue uno stato di iposecrezione,

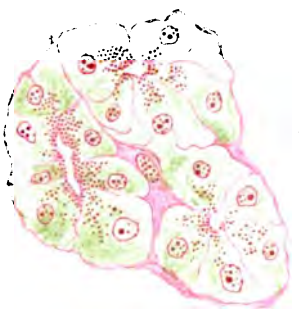
finchè la formazione dei granuli si sospende del tutto. Nel connettivo che circonda gli acini ghiandolari e i condotti escretori ha luogo in primo tempo una notevole infiltrazione, che è poi seguita da abbondante iperplasia connettivale. I condotti escretori gradatamente si dilatano fino a raggiungere un forte grado di ectasia in un periodo avanzato dalla legatura del condotto di *Wirsung*. Dilatato è anche il lume degli acini ghiandolari, alcuni dei quali assumono l'aspetto di vere e proprie cavità cistiche.

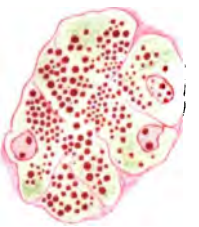
Per l'azione del secreto ristagnante, la maggior parte delle cellule si atrofizzano e finiscono collo sparire completamente. Altre invece conservano la loro vitalità e vanno incontro a quel processo conosciuto sotto il nome di sdifferenziazione (*Entdifferenzierung*), assumono cioè i caratteri di cellule giovani, embrionali. Queste cellule proliferano e gradatamente riacquistano la loro specificità ossia la proprietà secernente, ciò che è caratterizzato dal ricomparire in esse di granuli di secrezione. Esse si dispongono dapprima in guisa da costituire dei nidi cellulari, in mezzo ai quali successivamente si osserva un piccolo lume ghiandolare. Questi nidi cellulari acquistano sempre più l'aspetto di veri acini, talchè dopo due mesi dalla legatura del condotto escretore, ci è dato osservare, fra l'abbondante tessuto connettivo di nuova formazione e in prossimità di acini atrofici e dotti fortemente dilatati, degli acini costituiti da cellule ricche di granuli, ai quali è da attribuirsi il valore di acini ghiandolari rigenerati.

## Bibliografia.

1. Pawlow, Folgen der Unterbindung des Pancreasganges bei Kaninchen (Pflüger's Arch., Bd. 16, 1878, p. 123).
2. Arnozan et Vaillard, Pancréas du lapin. Alteration produites par la ligature du canal excreteur. (Journal de Méd. de Bordeaux, 3 avril 1880).
3. Arnozan et Vaillard, Contribution à l'étude du pancréas du lapin. Lesions provoquées par la ligature du canal de Wirsung. (Arch. de Physiologie, 3, 1884).

4. Mouret, Dégénérescence du pancréas chez le lapin consecutive à la ligature du canal de Wirsung. (Soc. de Biologie, 19 janvier 1895, pag. 38).
5. Vassale, Sulle alterazioni del pancreas consecutive alla legatura del dotto di Wirsung. (Reggio Emilia, 1891).
6. Diamare, Studi comparativi delle isole di Langerhans del pancreas. (Intern. Monatschrift für Anat., Bd. XVI).
7. Lo stesso, Sul valore anatomico e morfologico delle isole di Langerhans. (Anat. Anzeiger, Bd. XVI, N. 19).
8. Ssobolew, Ueber die Structur der Bauchspeicheldrüse unter gewissen pathologischen Bedigungen. (Centralblatt f. Allgemeine Pathologie u. Pathologische Anatomie, 7 april 1900).
9. Lo stesso, Zur Morphologie des Pancreas nach Unterbindung seines Ausführganges etc. (Petersburg Dissert., 1901).
10. Mankowski, Zur Mikro-Physiologie der Pankreasdrüse. (Die Bedeutung der Langerhans' schen Inseln, Kiew, 1900).
11. Lo stesso, Ueber die mikroskopischen Veränderungen des Pankreas nach Unterbindung einzelner Theile und über einige mikrochemische Besonderheiten der Langerhans' schen Inseln. (Archiv f. Mikroskopische Anatomie, 59 Bd., 2 Heft).
12. Heidenhain, Beiträge zur Kenntniss des Pancreas. (Pflügers' Arch., 1875).
13. Lo stesso, Bau des secretorischen Apparates im Ruhezustande, in Handbuch der Physiologie der Hermann, Bd. 5, pag. 173
14. Langerhans. Beiträge zur mikroskopischen Anatomie der Bauchspeicheldrüse. (Berlin, 1869).
15. Pflüger, Die Speicheldrüsen. (Stricker's Handbuch der Geweblehre, Vol. I, Leipzig, 1871).
16. Nussbaum, Ueber den Bau und die Tätigkeit der Drüsen. Arch. f. mikr. Anat., Vol. XIII, Vol XV, Vol. XVII.
17. Kühne e Lea. Beobachtungen über die Absonderung des Pankreas, Untersuchungen aus dem, physiol. Institut der Universität zu Heidelberg, II Verhandlungen d. naturhist-med. Vereins zu Heidelberg, I.
18. Nicolas, Contribution à l'étude des cellules glandulaires. (Arch. de phys. norm. et pathol., 1892, A. XXIV, T. IV, N. 2).
19. Ogata, Die Veränderungen der Pankreaszellen bei der Secretion. (Archiv f. Physiol., 1883).
20. Laguesse, Sur l'histogénie du Pancréas: la cellule pancréatique. (Société de Biologie, 1893).
21. Trambusti, Contributo alla fisiologia della cellula epatica. (Pubblicazioni del Laboratorio di Anatomia dell'Università di Roma, 1896).
22. Ferrari, Contributo allo studio della fisiopatologia della cellula epatica. (Rivista veneta di scienze mediche, Vol. XIV, 1897).



Tiberti. – *Sulle minute alterazioni del pancreas ecc.*

23. Lukianow, Beitrag zur Morfologie der Zelle. (Arch. f. Anat. u. Physiol., Abt. 1887).
24. Trambusti, Contributo allo studio della fisiologia della cellula. (Lo Sperimentale, A. XLIX, fasc. II).
25. Galeotti, Ueber die Granulationen in den Zellen. (International Monatsschrift f. Anat. u. Physiol. 1895, Vol. LII). — Beitrag zur Kenntniss der sekretionserscheinungen in den Epithelzellen der Schildrüse. (Arch. f. mikr. Anat., 1896). — Sulle granulazioni cellulari nei carcinomi. (Il Policlinico, 1895).
Per i fenomeni di sdifferenziazione cellulare si consulti: Lustig, Patologia generale, Milano, 1901-1902, Vol. I.

## Spiegazione delle Figure (Tav. VII).

Fig. I. — Acini pancreatici normali allo stato di attività secretoria.
Fig. II. — Acino pancreatico 24 ore dopo la legatura del condotto di Wirsung. Ipersecrezione di granuli.
Fig. III. — Acino pancreatico dopo 7 giorni dalla legatura del condotto escretore. Cellule atrofiche e cellule sdifferenziate.
Fig. IV. — 20 giorni dopo la legatura. Un acino pancreatico ridotto a cavità cistica. Nido cellulare con accenno a cavità, abbozzo di un futuro acino pancreatico.
Fig. V. — Acino pancreatico completamente rigenerato.

Tutte le figure furono disegnate coll'obbiettivo ad immersione omogenea $^1/_{12}$, e coll'oculare III di Koristka.

# SUI COMPOSTI ORGANICI DI FERRO DEL FEGATO.

NOTA

DEL

**DOTT. LODOVICO BECCARI** (1)
Assistente nell' Istituto di Chimica farmaceutica e tossicologica di Torino.

Nel 1885 il *Bunge* (2) apriva una nuova via agli studi già numerosi sul ricambio del ferro nell' organismo animale con la scoperta dell' ematogene nell' uovo di pollo; era questa la prima sostanza proteica bene caratterizzata, ricca di ferro, che, per la felice scelta del campo di indagine, potesse senza dubbio ritenersi materiale di riserva e di successiva elaborazione nell' emoglobinogenesi. Ad essa non soltanto si riannodano la teoria dell' assorbimento del ferro sostenuta dal *Bunge*, ed il concetto, più o meno preciso, di combinazione organica del ferro, che diedero origine a tante ricerche e discussioni, e sulle quali non voglio indugiare, ma si deve altresì l' impulso a ricercare nell' organismo stesso combinazioni di ferro analoghe per natura chimica o per ufficio, all' ematogene. Il fegato, di cui dallo stesso *Bunge* veniva contemporaneamente messa in luce l' importanza nel ricambio del ferro, fu specialmente oggetto di simili indagini, e l' anno seguente lo *Zaleski* (3) pubblicò un notevole studio sul contenuto di ferro e sui singoli composti ferruginosi di questo organo.

(1) Iniziai le presenti ricerche essendo preparatore nell' Istituto fisiologico di Bologna.

(2) Bunge, *Ueber die Assimilation des Eisens*. (Zeitsch. f. physiol. Chem., Bd. 9, S. 49, 1885).

(3) Zaleski, *Studien über die Leber*. (Zeitsch. f. physiol. Ch., Bd. 10, S. 453-502, 1886).

Per valutare giustamente l'importanza delle conclusioni a cui pervenne questo autore, è necessario riferirsi ai metodi seguiti nella difficile questione, e sui quali non posso dilungarmi; basti rammentare che lo *Zaleski*, più che fare lo studio diretto di determinate combinazioni di ferro nel fegato, si valse in parte del metodo generale di separazione dei costituenti del fegato usato dal *Plòsz* fino dal 1873, combinandolo a saggi chimici del ferro eseguiti, oltre che con gli ordinari reattivi del ferro, con la miscela di *Bunge* (soluzione alcolica di acido cloridrico) ed associandolo infine alla digestione peptocloridrica per la separazione delle nucleine. Estraendo le cellule epatiche, con ripetute e prolungate macerazioni fino ad estrazione completa, prima con acqua distillata, poi con soluzione di cloruro sodico a 0,75 %, ottenne sempre sostanze proteiche coagulabili e contenenti ferro, onde l'A. conclude: « Diese organische Verbindungen gerade deswegen, weil sie « mit den verschiedenen Eiweissstoffen aus der Leber extra- « hirt, und aus den verschiedenen Extractionsflüssigkeiten « mit den Eiweissstoffen zusammen niedergefällt werden, « können von der sog. Albuminaten nicht verschieden sein ». Sottoponendo poi i residui cellulari in tal modo estratti, ad una completa digestione artificiale, ottenne un residuo di materie nucleiniche impure e contenenti ferro, che lavò ripetutamente con etere e da cui estrasse mercè l'ammoniaca una sostanza contenente ferro, che denominò *epatina*. Lo *Zaleski* ammette anzi l'esistenza nel fegato di diverse specie di sostanze nucleiniche (Nucleoverbindungen), delle quali la più importante sarebbe la sua *epatina*; ma i criteri sui quali poggia tali distinzioni sono in verità troppo scarsi e manchevoli. La definizione stessa di nucleina data all'*epatina* non fondasi che sul modo di separazione (digestione peptocloridrica) e non già sulla composizione delle ceneri (acido fosforico) e sui prodotti di scissione (basi nucleiniche), che servono appunto a caratterizzare le vere nucleine (*Kossel*); onde l'importanza attribuitale, e conservatale nella susseguente letteratura, quale composto organico di ferro, mi pare del tutto ingiustificata tanto più se si pone mente alla quantità minima di ferro in essa rinvenuta.

Infatti da gr. 64 del residuo della digestione, da cui poi venne isolata l'epatina (corrispondenti a gr. 42,44 di sostanza secca) lo *Zaleski* non ottenne che gr. 0,0075 di ferro, corrispondente a 0,0117 per 100.

Il merito principale delle ricerche di *Zaleski*, oltre a molti dati analitici sul ferro totale epatico, mi pare stia più che altro nell'avere fissato il concetto che tutto il ferro del fegato si presenti in combinazione organica; poichè lo studio individuale di tali combinazioni è troppo manchevole e soggetto a critica.

Nel 1892 il *Marfori* (1) nell'istituto farmacologico di Strassburg, tratto dagli studi sulle combinazioni artificiali del ferro con l'albumina a ricercare analoghi composti di ferro nei tessuti, ricavò dal fegato, mediante la macerazione dell'organo in acqua lievemente ammoniacale e susseguente decozione, una sostanza ferruginosa che « ha caratteri fisici e chimici affatto analoghi alla ferratina artificiale, onde si può chiamare *ferratina naturale* ». I caratteri sui quali il *Marfori* stabilisce l'identità dalle due sostanze sono: l'aspetto (polvere rossastra), la solubilità negli alcali diluiti, dalle cui soluzioni precipita mediante gli acidi organici (nell'eccesso dei quali si ridiscioglie) e infine la reazione col solfuro di ammonio e l'elevato contenuto percentuale di ferro (3,55 — 4,9 °/₀).

Lo *Schmiedeberg* (2) occupandosi del medesimo argomento, confermò i risultati del *Marfori*, semplificando il metodo di estrazione della sostanza. Egli pure afferma l'identità della ferratina naturale con quella preparata artificialmente (3); ed addentrandosi nell'oscuro campo delle reazioni provocate in vitro tra albuminati alcalini e sali di ferro, lo *Schmiedeberg* definisce il composto artificiale preparato dal *Marfori* come un *acido ferrialbuminico*, e come tale considera pure la sostanza

(1) Marfori, *Sulla ferratina*. (Ann. d. Chim. e Farmacol., 1894, pag. 80).

(2) Schmiedeberg, *Ueb. das Ferratin und seine diätetische und therapeutische Anwendung*. (Arch. f. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 33, S. 101-116).

(3) Schmiedeberg, loc. cit. « Unter den Namen Ferratin soll daher, zur Unterscheidung von jenen anderen Eiseneiweissverbindungen nur *die natürliche* und die *derselben entsprechende Form der kunstlichen Ferrialbuminsäure* verstanden werden ».

estratta dal fegato: « Diese Verbindung ist Ferrialbuminsäure « denn Nucleinverbindungen gehen bei diesem Verfahren nicht « in die fast sauer reagirende Brühe über ». Ho cercato invano nel lavoro dello *Schmiedeberg* altri argomenti che dimostrino l'identità delle due sostanze, oltre quelli già invocati dal *Marfori*. Tralascio di ricordare le importanti deduzioni di ordine fisiologico e terapeutico che lo *Schmiedeberg* trasse da questa identità, bastando accennare al favore ed alla considerazione con cui simili ricerche furono accolte dai fisiologi ed al posto eminente assegnato alla così detta ferratina naturale tra i composti organici del ferro. Numerosi autori si applicarono in seguito alla ricerca di questa sostanza studiando le variazioni sue quantitative e quelle del ferro in essa contenuto tanto negli animali che nell'uomo, in condizioni fisiologiche e sperimentali diverse ed anche in condizioni morbose. (1) Ma in tutte queste ricerche nessuna osservazione venne fatta sulla natura di tale sostanza, se ne togli le notizie intorno a modificazioni superficiali nell'aspetto, sui cangiamenti della ricchezza di ferro e sulle lievi alterazioni che può patire dai reagenti nei processi di estrazione. Da ultimo ricorderò che il *Woltering* (2) in uno studio sull'assorbimento del ferro ha accennato ad estendere le ricerche sulle combinazioni organiche del ferro nel fegato; partendo dall'osservazione che i risultati dello *Zaleski*, per quanto imperfetti, mostrano che il ferro, almeno in parte, compare legato a corpi nucleinici, e che tali sostanze, per gli studi ulteriori, rappresentano per lo più prodotti di scissione di nucleoproteidi, rivolse l'attenzione al nucleoproteide isolato dal tessuto epatico pochi anni prima dal *Halliburton*. Egli lo estrasse dal fegato di conigli e di cani con metodo che ricorderò più innanzi, ma egli pure trascurando lo studio diretto di tale sostanza rivolse unicamente la ricerca ad indagini di confronto sulla quantità di ferro del proteide ricavato da animali normali e da altri alimentati con

(1) Ricordo i lavori di *Vay* (1893), *Woltering* (1894), *Venturoli* (1896), *Folli* (1897), *Morishima* (1898), *Novi* (1900-1901).

(2) WOLTERING, *Ueb. die Resorbirbarkeit der Eisensalze.* (Zeitsch. f. physiol. Ch., Bd. 21, S. 186-233, 1895-96).

ferro, giungendo a risultati di poco momento, anche per ragioni fondamentali di tecnica analitica [1]. Il nucleoproteide epatico è dal *Woltering* identificato semplicemente basandosi sul metodo di estrazione seguito e sul residuo da esso lasciato nella digestione pepto-cloridrica; tali dati possono bensì dare una indicazione generica sulla natura della sostanza isolata ma sono insufficienti a caratterizzarla come nucleopr oteide,e l'autore stesso viene a confortare questa osservazione quando scrive a mo' di conclusione: « Weiter möchte ich hierbei be-
« merken, dass es ausserdem nicht nachgewiesen ist, das mit
« Essigsäure gefällte Nucleoproteid sei nur ein einziger Stoff.
« Dasselbe kann sehr gut eine Mischung von mehreren zu
« derselben Gruppe gehörenden Verbindungen sein ». Lo stesso autore si occupò anche della ferratina di *Marfori* e *Schmiedeberg*, ma non portò nessuna nuova cognizione sulla natura di questa sostanza; talchè, riferendo al nucleoproteide le nucleine isolate dallo *Zaleski* (come ragionevolmente portavano a ritenere gli ulteriori studi su tali composti), così il *Woltering* conchiude sulla natura dei composti di ferro nel fegato: « Man
« kann also aus der Leber mehrere Eisenverbindungen dars-
« tellen, erstens ein Nucleoproteid, zweitens das Ferratin, und
« die Möglichkeit besteht, dass noch mehr dergleichen Ver-
« bindungen in der Leber anwesend sind ».

Come si vede assai imperfetta è la conoscenza di queste sostanze estratte dal fegato. In verità le numerose ricerche, che in questi ultimi anni hanno avuto per oggetto il ricambio organico del ferro, occupandosi dei composti ferruginosi del fegato, e in primo luogo della ferratina, hanno seguìto di preferenza un metodo comune: studiare le variazioni quantitative del ferro del fegato e dei composti descritti, inducendo da quelle la natura, l'ufficio e le metamorfosi di questi. Il qual metodo, come si comprende, non può riuscire per lo più che sterile od anche erroneo, quando preceda o voglia sostituirsi ad

[1] Il nucleoproteide analizzato in quantità troppo piccole conteneva in genere quantità di Fe oscillanti appena intorno al milligr. (talora anche mezzo), e tali perciò da non consentire una valutazione centesimale attendibile.

uno studio diretto qualitativo delle forme di combinazione e delle trasformazioni del ferro nell' organismo. Ben è vero che l' ignoranza profonda della struttura delle sostanze proteiche in genere e dei modi di collegamento, che con esse incontra il ferro, rendono questa via difficile e lunga, ma essa sola, a mio parere, condurrà a risolvere problemi fondamentali per l' ematogenesi.

Il concetto di combinazioni organiche di ferro introdottosi nella fisiologia con le ricerche del *Bunge*, mentre ha una indeterminatezza tutta particolare nel rispetto chimico, ha assunto una estensione mano mano crescente nella significazione fisiologica. Da prima invocato dal *Bunge* stesso per chiarire il meccanismo di assorbimento del ferro, esso è venuto in seguito legato ai fenomeni più intimi di assimilazione, di elaborazione progressiva di questo elemento nell' organismo.

È bensì vero che nel concetto generale di composto organico di Fe si comprendono necessariamente tutte le forme di elaborazione di questo elemento fino alla molecola emoglobinica, ma appunto per tale generalità non possiamo da esso inferire logicamente il significato particolare di questo o quel composto organico, solo perchè tale. Quanto più precisa sarà la conoscenza delle proprietà chimiche e della composizione di un determinato composto organico di ferro, tanto più diverrà possibile seguirne le vicende e da queste indurne la destinazione fisiologica. Con tale indirizzo ho eseguito alcune ricerche sui composti organici del ferro del fegato, e comunico i risultati che mi parvero avere qualche interesse. Non ho preso in esame il composto, che va sotto il nome di epatina di *Zaleski*, perchè tanto per il metodo di separazione quanto per la probabile natura nucleinica di tale sostanza, che deve farla già a priori considerare come un prodotto più o meno impuro della digestione peptocloridrica del nucleoproteide epatico, non merita oggi quella considerazione che ha avuto per lo passato. Rivolsi perciò la mia attenzione alla così detta *ferratina naturale* e al *nucleoproteide*.

## Ricerche sulla composizione della ferratina naturale.

Sulla ferratina naturale descritta da *Marfori* e da *Schmiedeberg* manca qualunque ricerca diretta a stabilirne la natura e non si sono saggiate su di essa nemmeno le reazioni generali delle sostanze proteiche. Tale deficienza e alcuni dubbi di ordine generale mi indussero a studiare questa sostanza con qualche diligenza. Le ricerche furono eseguite sopra ferratina estratta da fegati di cani normali. Usai il metodo di estrazione seguìto dallo *Schmiedeberg* stesso: il fegato veniva lavato per la vena porta con soluzione fisiologica di cloruro di sodio, poi triturato finamente ed estratto con acqua distillata portando la miscela per pochi minuti all' ebollizione. Il filtrato acidulato cautamente con soluzione di acido tartarico, dava un precipitato fioccoso giallo ranciato, che veniva raccolto, lavato con acqua, con alcol e con etere, poi ridisciolto in acqua ammoniacale, nella quale dava una soluzione limpida giallo-bruna, riprecipitata con acido tartarico diluito lavata accuratamente con acqua, alcol ed etere in abbondanza e seccata nel vuoto sull' acido solforico. Ho fatto anche varie preparazioni da fegati sani, non privati del sangue con la lavatura, e n' ebbi un prodotto che non differiva dall' altro se non per una colorazione bruna più carica.

La sostanza secca si presenta come polvere giallo-bruna, che si discioglie con lentezza ma completamente negli alcali diluiti, dalle cui soluzioni è precipitabile per neutralizzazione con acidi deboli. Gli acidi minerali (HCl) la disciolgono con facilità; lo stesso fanno anche gli acidi organici (acetico, tartarico) quando sieno in eccesso.

Dà le reazioni colorate delle materie proteiche e cioè: la reazione di *Millon*, quella del biureto e quella di *Adamkiewicz*.

Come ho accennato, i caratteri generali di solubilità e l' aspetto della sostanza non erano sufficenti a caratterizzarne la natura, tanto meno a definirla come un albuminato di ferro o, come si espresse lo *Schmiedeberg*, un acido ferrialbuminico.

Lo *Shmiedeberg*, e con lui il *Marfori*, furono tratti in inganno dalla concordanza, tutta apparente e troppo superficiale, dei caratteri esteriori del preparato ottenuto dal fegato con quelli del prodotto artificiale da loro fabbricato e cioè: l'aspetto, i caratteri di debole acido e il contenuto di ferro, e senz'altro proclamarono l'identità dei due prodotti. Noto intanto, che con tale ammissione la così detta ferratina naturale del fegato verrebbe a costituire uno strano individuo chimico, che non trova posto in nessuno dei gruppi in cui un diligente studio delle proprietà e della composizione ha classificato le *sostanze proteiche naturali*; essa costituirebbe l'unico rappresentante fra le *naturali*, di quelle materie proteiche artificialmente denaturate da reagenti chimici, che vanno sotto il nome generico di *albuminati*. Per la sua incoagulabilità al calore, in unione ai caratteri di proteina, essa si avvicinerebbe alle nucleoalbumine, come la caseina; e furono appunto tali considerazioni che mi indussero a studiarne più completamente la composizione. L'analisi delle ceneri di questa ferratina, getta molta luce sulla questione. Se si calcina un po' di sostanza sia da sola, sia con soda e nitro purissimi, si ottiene una cenere che disciolta in acido nitrico, oltre alle reazioni del ferro, dà pure quella dell'acido fosforico col reattivo molibdico, cioè un abbondante precipitato giallo cristallino di fosfomolibdato di ammonio. Il fosforo si presenta in copia notevole; e la sua presenza esclude già la identità di questa materia con la ferratina artificiale di *Schmiedeberg* e *Marfori*. L'analisi quantitativa delle ceneri mi ha dato i seguenti valori: 1,62 % Fe e 2,23 % P; esse contengono anche piccole quantità di S che non fu determinato.

Sottoposi allora la sostanza alla digestione peptica. Una discreta quantità fu sciolta in acqua ammoniacale e precipitata con minimo eccesso di acido cloridrico diluito, indi separata per decantazione fu posta a digerire in soluzione contenente il 2 per 1000 di pepsina *Witte* molto attiva e il 3 per 1000 di HCl nel termostato a + 38° per varie ore. La sostanza in breve tempo si disciolse e infine si separò un precipitato fioccoso bruniccio che venne separato. Il filtrato dava intensa

reazione del biureto (rosso-viola) e evidente reazione del Fe. Il residuo bruno separato era solubile in $NH^3$ diluita e precipitava per aggiunta di acidi organici diluiti; calcinato lasciò un residuo ricco di ferro e di acido fosforico.

Questi caratteri, che sempre più si convengono ad una nucleoalbumina, m'indussero a ricercare i prodotti della idrolisi sia della sostanza primitiva che del residuo della digestione peptica, e constatai, con mia meraviglia, la presenza nell'uno e nell'altra di basi xantiniche. Procedetti col seguente metodo generale:

Un gr. di prodotto puro, disciolto prima in acqua ammoniacale, e poscia precipitato con poche gocce di $H^2SO^4$ diluito, è posto a bollire in 200 cc. di acido solforico a 0,5 %. Dopo un'ora di ebollizione tutta la sostanza è disciolta completamente dando un liquido limpido anche a freddo, di color rosso-bruno. Alcalinizzando con $NH^3$ un saggio del liquido si ha un abbondante precipitato di idrato e fosfato ferrico. La soluzione è trattata con acetato di piombo, il filtrato liberato dall'eccesso di Pb mediante l'$H^2S$, e il nuovo filtrato concentrato a piccolo volume. Alcalinizzando questo fortemente con $NH^3$ e separando con la filtrazione l'eventuale precipitato, si tratta la soluzione con nitrato d'argento ammoniacale, che determina un abbondante precipitato gelatinoso di composti argento-nucleinici.

Per la quantità insufficiente di questi composti argentici delle basi xantiniche non ho potuto estendere la ricerca fino alla separazione e riconoscimento delle singole basi, che nel fegato sono sovratutto rappresentate dalla guanina, xantina ed ipoxantina in rapporti variabili. Ho però sempre sottoposto il precipitato argentico ad altri saggi che potessero confermare la presenza indiscutibile di quelle basi. A tal fine decomposi il composto argento-nucleinico con idrogeno solforato, separai il solfuro d'argento, e concentrai la soluzione delle basi a piccolo volume; da tale soluzione ottenni il precipitato caratteristico coi sali ramosi, e le seguenti reazioni colorate:

*a*) *reazione di Weidel.* — Scaldando un po' della soluzione delle basi con acqua di cloro ed una traccia di acido nitrico,

ed evaporando in una cassula ottenni un residuo giallo che esposto ai vapori ammoniacali passava al roseo o ranciato;

*b*) *reazione della xantina.* — Evaporando la stessa soluzione e trattando il residuo con acido nitrico (D = 1,2) in cassula e portando di nuovo a secco ottenni un residuo giallo, che per azione della potassa caustica si faceva ranciato o roseo schietto, e col riscaldamento passava al violaceo;

*c*) questa ultima reazione, decisa ma non troppo intensa, si faceva molto più spiccata usando invece acido nitrico a 1,4 D; il che sta probabilmente per la presenza di ipoxantina in unione a xantina e guanina, alle quali ultime sono comuni le precedenti reazioni.

Ho esteso le ricerche precedenti ai prodotti consimili ottenuti dal fegato di altri animali ed ho potuto constatare che tale composizione è costantemente eguale qualitativamente, e molto simile nei rapporti quantitativi: sì che mi pare giustificato conchiudere che le diverse ferratine estratte da diversi animali rispondano ad un tipo unico generale. Riferisco perciò i dati seguenti:

*Ferratina dal fegato di maiale* (¹). — Estratta dal fegato fresco, non lavato del sangue, con lo stesso metodo sopra descritto, si presenta sotto forma di polvere rosso-bruna, solubile in alcali diluiti, precipitabile dagli acidi deboli. Dà le reazioni generali delle materie proteiche, e calcinata lascia un abbondante residuo color mattone, che dà le reazioni del Fe e del $P^2O^5$. Sottoposta all' idrolisi con acido solforico diluito, dà un copioso precipitato di composti argentonucleinici dai quali si ottengono assai spiccate le precedenti reazioni delle basi xantiniche. La sua composizione è la seguente: Azoto 14,1 %. Ceneri: S 1,92 %, Fe 1,67 %, P 2,55 %.

Come si vede tale composizione è molto vicina a quella del prodotto precedente.

*Ferratina del fegato di bue* (²). — Estratta pure da fegato fresco e non lavato dal sangue, si presenta come polvere di

(¹) Noto che i maiali da cui tolsi il fegato erano animali di un anno di età appena e in stato di nutrizione floridissima.

(²) Animali adulti da macello in buono stato di nutrizione.

colorito giallo pallido, grigiastro, con le stesse reazioni generali sopra enumerate. Calcinata lascia un residuo meno abbondante, che dà pure le reazioni del Fe, e del $P^2O^5$; contiene essa pure basi xantiniche. L'analisi quantitativa ha dato: Azoto 12,1 %. Ceneri: S 0,55 %, Fe 0,52 %, P 1,60 %.

Riassumendo i dati sopra riferiti si può dunque affermare che la sostanza estratta dal tessuto epatico con la decozione semplice e che va sotto il nome di ferratina, ha una composizione assai complessa che la distingue assolutamente da un semplice albuminato o da una qualsiasi proteina; la sua composizione è caratterizzata dalla presenza di acido fosforico in combinazione organica e di basi xantiniche, in un gruppo nucleinico separabile con la digestione pepsinica.

Questi costituenti la farebbero classificare fra i nucleoproteidi; ma alcuni fatti contrastano con tale ammissione, e primo tra tutti la proprietà di non coagulare con l'ebollizione. Tale eccezione ad un carattere generale dei nucleoproteidi fino ad ora descritti, mentre mi trattenne dal farne subito troppo alla leggera una nuova individualità distinta fra le materie proteiche native, venne spiegata dalle ricerche sull'altro prodotto che già contemporaneamente andavo studiando nel fegato e che ora riferisco.

## Ricerche sul nucleoproteide.

Il primo a riconoscere la presenza di un nucleoproteide nelle cellule epatiche e a studiarne le proprietà principali fu *Halliburton* (1) nel 1892. Egli lo ottenne mercè l'estrazione dell'organo con acqua distillata, precipitazione con acido acetico diluito, e purificazione del prodotto con ripetute soluzioni in acqua lievemente ammoniacale e riprecipitazione con acido acetico. Ne riconobbe la natura dalla presenza di acido fosforico in organica combinazione, dall'azione coagulante sul sangue circolante degli animali, e dal residuo nucleinico che la-

(1) Halliburton, *The proteids of kidney and liver cells.* (Journ. of Physiol., Vol. XIII, 1892, pag. 807).

sciava nella digestione pepsinica; nè sfuggì a questo autore la presenza di piccole quantità di ferro nelle ceneri di tale proteide. Ho già rammentato le ricerche del *Woltering*. Più recentemente ancora lo *Spitzer* (1), con diverso fine, si occupò di nuovo del nucleoproteide epatico, che isolò con lo stesso metodo del *Halliburton*, sottopose al saggio della digestione pepsinica ed analizzò abbastanza completamente; i suoi dati si riferiscono al proteide del fegato di cavallo, per il quale ottenne: C 49,12, H 7,14, N 15,55, P 0,96, Fe 0,23 %, infine S che non fu dosato.

Tutti questi autori hanno però tralasciato la ricerca delle basi nucleiniche, che hanno importanza caratteristica fra i prodotti di scissione dei nucleoproteidi.

Applicando l'accennato metodo di estrazione mi avvidi, come lo stesso *Halliburton* ebbe a notare, dello scarso rendimento di prodotto che si ottiene, e con prove preliminari potei convincermi che molta parte del proteide rimane nella cellula epatica, e che può esserne estratto con soluzioni alcaline diluitissime, senza che si abbia a temere alterazione della sostanza.

## Preparazione del nucleoproteide dal fegato di cane.

Il fegato viene lavato dalla vena porta con soluzione fisiologica di cloruro sodico, innestando una cannula sull'animale narcotizzato mentre si apre la carotide e si uccide per dissanguamento.

Il fegato, privato della cistifellea, dei grossi vasi e del connettivo per quanto è possibile, viene finamente sminuzzato e la poltiglia è posta a digerire in 3-4 volumi di acqua distillata fredda. Operando in ambiente freddo ed agitando continuamente la miscela, si filtra dopo mezz'ora la soluzione per un pannolino, si spreme, si raccoglie il liquido che passa e si precipita immediatamente aggiungendo acido acetico diluito con

(1) SPITZER, *Die Bedeutung gewisser Nucleoproteïde für die oxydative Leistung der Zelle.* (Pflüger's Arch., Bd. 67, 1897, S. 615).

molta cautela. Il residuo dell'organo viene poi estratto successivamente per ben due volte con abbondanti quantità di soluzione di soda a 1 per 1000, operando con molta rapidità ed in ambiente freddo; si passa per pannolino, si spreme e le soluzioni filtrate sono immediatamente precipitate con acido acetico diluito. La prima soluzione acquosa abbandona un notevole precipitato fioccoso, bianchiccio di sostanze proteiche insolubili nel liquido lievemente acido; anche la prima soluzione alcalina dà un precipitato consimile, anche più copioso; la seconda dà pure un precipitato discreto che va raccolto; le estrazioni successive danno invece precipitati sempre più scarsi, che non vanno raccolti, anche per il dubbio che un' azione più prolungata dall'alcali possa un po' alterare i proteidi.

Si separano i diversi precipitati ottenuti, e si trattano con abbondanti quantità di soluzione ammoniacale diluitissima; non tutto il precipitato si ridiscioglie; si filtra rapidamente la soluzione ammoniacale dalle proteine indisciolte, e il nuovo filtrato viene rapidamente acidificato con acido acetico diluito con la solita avvertenza di non aggiungerne un eccesso. Si ha così un precipitato fioccoso, bianchiccio, che lentamente si deposita al fondo del vaso. Successivamente, sempre in luogo freddo e con la massima speditezza, si disciolgono i precipitati in acqua ammoniacale, si filtra e si riprecipita con acido acetico diluito finchè il liquido sovrastante limpido sia perfettamente incoloro e la soluzione del proteide perfettamente limpida. A tale punto la sostanza precipitata si presenta in fiocchi bianchi, si scioglie con facilità nell'acqua ammoniacale dando una soluzione limpida, di aspetto colloide, leggermente tinta in giallo pallido. Non mi è riuscito con nessun mezzo che non alterasse la sostanza, di privarla di queste tracce di materie coloranti; la sua tendenza a trascinare con sè materie coloranti è tale che estraendola dal fegato, che non siasi antecedentemente privato del sangue con la lavatura, si presenta colorata in giallo bruno più intenso, pure conservando intatte tutte le sue proprietà di proteide. L' alcol la precipita, ma come si vedrà, se agisce per un certo tempo la coagula e la rende insolubile; quando invece è di fresco precipitata con alcol, si ridiscioglie,

ma anche in tal modo non perde del tutto la colorazione giallognola.

Quando la sostanza si è portata a questo grado di purezza, viene lavata rapidamente con abbondanti quantità di alcol, poi con etere e viene seccata nel vuoto sull'acido solforico. Allo stato secco si presenta con aspetto di polvere sottile, di colore gialletto pallido, facilmente solubile in acqua ammoniacale, che dapprima la rigonfia, poi la scioglie dando una soluzione trasparente e più o meno di aspetto colloide a seconda della concentrazione. Una porzione di sostanza, prima di essere impiegata alle analisi per determinarne la composizione, viene lavata a lungo e più volte con alcol assoluto e con etere, non essendo in tal caso necessario conservarne la solubilità.

La sostanza così preparata ha i caratteri generali dei proteidi: è insolubile in acqua, solubile negli alcali diluiti, dalle cui soluzioni precipita per aggiunta di acidi diluiti, solubile in eccesso di acido acetico e cloridrico.

Insolubile in alcol che la precipita dalle sue soluzioni, e che, quando agisca per un certo tempo, la rende insolubile del tutto o in parte; anzi ho dovuto per tale ragione bandire affatto l'alcol nella preparazione del proteide, poichè anche quando è assai diluito (a 30 %) altera più o meno rapidamente la sostanza.

Dà le reazioni cromatiche e precipitanti generali delle sostanze proteiche.

Calcinata lascia un discreto residuo di ceneri colorate in rosso mattone da ossido di ferro. Esse danno evidentissime le reazioni del ferro e del $P^2O^5$. L'analisi quantitativa della sostanza mi ha fornito i seguenti risultati: Ceneri 2, %.

Composizione elementare C 49,74 %
H 7,42 %
N 15,50 %
S 0,50 %
P 0,76 %
Fe 0,33 %.

Sottoposta la sostanza alla digestione pepto-cloridrica artificiale si ottiene un residuo insolubile, nel quale si sve-

lano gran copia di ferro e di acido fosforico, e che è solubile negli alcali e precipitabile con gli acidi; la soluzione sovrastante dà una reazione del biureto spiccata (rosso-viola).

Per completare la conoscenza della composizione e della natura del proteide ho eseguito la ricerca delle basi xantiniche, sottoponendo tanto la sostanza prima che il residuo della digestione all'idrolisi con acido solforico diluito, con risultato positivo: in tal modo è possibile caratterizzare il prodotto come un vero *nucleoproteide*. La sostanza di fresco precipitata dalla sua soluzione ammoniacale, viene trattata con $H^2SO^4$ a 0,5 % e portata all'ebollizione; in breve tempo si discioglie, mentre si colora la soluzione in giallo più o meno carico. Dopo raffreddamento si precipita con acetato di Pb, si spiomba il filtrato con $H^2S$ e infine si concentra il nuovo filtrato a piccolo volume. Il liquido, alcalinizzato con $NH^3$ e trattato con nitrato d'argento ammoniacale lascia depositare un precipitato gelatinoso, che ha i caratteri delle combinazioni argento-nucleiniche. Eseguendo tale ricerca con tutta diligenza in un campione di proteide, ottenni il 3,23 % di composto argentico delle basi nucleiniche. Dal composto argentico isolai poi le basi xantiniche nel modo descritto a proposito della ferratina, ed eseguii su di esse le reazioni caratteristiche ivi ricordate con esito positivo e ben manifesto.

Assai interessante è il comportamento di questo proteide verso il calore, poichè esso, a mio parere, spiega bene i rapporti genetici tra questa sostanza e la così detta ferratina. L'azione della temperatura di ebollizione dell'acqua o di poco inferiore sui nucleoproteidi è stata da molti autori sperimentata, ma assai poco studiata negli effetti più intimi. Si sa, cioè, che i nucleoproteidi coagulano per il calore; ma in tale coagulazione il nucleoproteide non subisce semplicemente una trasformazione simile a quella delle proteine coagulabili bensì esso viene alterato più profondamente, cioè avviene una scissione della complessa sua molecola. Alcune prove preliminari mi fecero infatti vedere, che portando all'ebollizione una soluzione neutra di nucleoproteide si ha un coagulo fioccoso, e nel liquido filtrato per acidificazione cauta con acido acetico

si precipita una seconda sostanza pure in fiocchi. Il fatto meritava di essere studiato più attentamente; preparai una soluzione neutra di nucleoproteide sciogliendola in acqua ammoniacale, e neutralizzando con aggiunta assai cauta di acido acetico diluito finchè cominciasse a formarsi una leggerissima opalescenza persistente del liquido; a tale punto questo reagiva neutro al tornasole. Filtrata la soluzione e portata per pochi istanti all' ebollizione ebbi la coagulazione di una sostanza in fiocchi minuti leggermente colorati in giallo che raccolsi su filtro e lavai con acqua distillata calda (porzione *A*). Il filtrato, limpido e raffreddato, acidificato moderatamente con acido acetico diluito, diede un secondo precipitato fioccoso bianco che venne pure separato (porzione *B*).

*Porzione A.* — È insolubile oltre che nell' $H^2O$, nell' ammoniaca diluita; si scioglie negli alcali fissi e negli acidi concentrati. Dà le reazioni di *Millon* e quella del biureto (colorazione violetta pura). Una parte della sostanza, lavata inoltre con alcol, e seccata, viene calcinata in capsula di platino; essa lascia un residuo minimo di ceneri, colorate in rosso bruno: la soluzione nitrica delle ceneri dà evidenti le reazioni del Fe. Invece le reazioni dell' *acido fosforico* sono del tutto *negative*.

Su di un' altra porzione di sostanza, idrolizzata con $H^2SO^4$ al 0,5 °/₀ per due ore all' ebollizione, si ricercano le basi xantiniche, ma non si ottiene nessun precipitato con nitrato d'argento ammoniacale. I caratteri suddetti sono di un'albumina primaria coagulata, contenente piccole quantità di ferro.

*Porzione B.* — Dà essa pure le reazioni delle materie proteiche, reazione di *Millon* e del biureto molto manifeste.

È solubile nel $NH^3$ diluita e precipita per acidificazione con acido acetico, in un eccesso del quale si ridiscioglie. Così pure la disciolgono gli alcali fissi e l' acido cloridrico in eccesso.

Una parte della sostanza, lavata con alcol, e calcinata, lascia un residuo di carbone che brucia con difficoltà. L'estratto nitrico delle ceneri dà le reazioni spiccate del ferro, e così pure quelle dell' *acido fosforico* (precipitato cristallino di fosfomolibdato d' ammonio).

Il rimanente prodotto è posto a bollire in $H^2SO^4$ a 0,5 % per un'ora; la soluzione limpida dà con ammoniaca un precipitato, che presenta intense reazioni di ferro e di acido fosforico; essa viene precipitata con acetato di piombo, liberata dall'eccesso di piombo con $H^2S$, e concentrata: indi alcalizzata con $NH^3$ dà con nitrato d'argento ammoniacale un discreto precipitato gelatinoso di *composti argento-nucleinici.*

Adunque il nucleoproteide per effetto dell'ebollizione subisce una scissione in due diverse sostanze; la prima, che potrebbe definirsi gruppo *proteico*, ha caratteri di una proteina primaria coagulata, la seconda, che potrebbe dirsi gruppo *proteide*, ha i caratteri nucleinici e contiene certamente il gruppo prostetico del nucleoproteide. Tanto l'una che l'altra contengono Fe, e, a mio parere, questo fatto contribuisce a far ritenere che anche qui la combinazione del Fe non sia affatto specifica nè dovuta a legami tanto intimi, come si pretende ma abbastanza labile.

La conclusione che direttamente procede dai fatti riportati si è che la sostanza estratta dal fegato col nome di ferratina altro non è che un prodotto più o meno puro di scissione del nucleoproteide che si ricava dal fegato con metodo più delicato. Ciò si desume in primo luogo dalla composizione della così detta ferratina, la quale non è affatto un acido ferrialbuminico, ma un prodotto che contiene i gruppi caratteristici delle nucleine (fosforo e basi xantiniche); ed in secondo luogo dalla scissione che subisce il nucleoproteide stesso per ebollizione in soluzione neutra. Com'è chiaro, la così detta ferratina rappresenta appunto il gruppo *proteide* che per opera del calore si stacca dalla parte *proteica* coagulabile del nucleoproteide epatico, e che rimane in soluzione; tale è appunto l'effetto che deve subire il composto originario ora studiato, quando si estragga il fegato coll'ebollizione in acqua distillata per la preparazione della ferratina [1].

---

[1] Come si comprende, il composto dello Zaleski rappresenta, almeno in parte, la nucleina (vera) che si ha per digestione pepsinica del nucleoproteide. Ma confrontando il metodo di preparazione dello Zaleski con le proprietà generali del nucleoproteide (estrazione parziale con acqua distillata),

Tali rapporti vengono confermati anche dal contenuto più elevato di fosforo della così detta ferratina rispetto al proteide originario, e la sua natura chimica si avvicina assai a quella della nucleina, che può ricavarsi dal proteide con la digestione pepsinica; ma si deve osservare che la ferratina possiede una molecola più complessa della nucleina propriamente detta, perchè sottoposta alla digestione peptocloridrica mostra essa pure di contenere ancora gruppi proteici peptonizzabili, e rappresenta quindi un prodotto di scissione intermedio fra il nucleoproteide e la nucleina corrispondente.

Di guisa che il risultato fondamentale di queste ricerche si è di ricondurre ad una unica sostanza primitiva (¹) le varie materie, che furono fino ad ora descritte come combinazioni organiche di ferro del fegato; queste non rappresentano che prodotti più o meno denaturati di un nucleoproteide, che per le sue proprietà e composizione è da ritenersi senza dubbio più diretto ed integrale costituente della cellula epatica.

L'importanza fisiologica dei nucleoproteidi, come costituenti altamente differenziati dell'organismo cellulare, e sovra tutto del nucleo, e i molteplici aspetti funzionali, sotto i quali in questi ultimi anni essi vennero e sono tuttavia studiati, danno al proteide epatico un significato di gran lunga più determinato come composto ferruginoso. Senza emettere opinioni o ipotesi, alle quali si richiede una più intima conoscenza del modo e dei rapporti di combinazione del ferro col proteide, che oggi ancora si abbia, si può ritenere con molta verisimiglianza che il ferro in esso contenuto rappresenti un

si comprende tosto come la *epatina* provenga probabilmente solo da una parte del proteide rimasto insolubile negli elementi epatici, e come tra gli *albuminati* solubili ammessi dallo stesso autore, debba comparire anche il nucleoproteide.

(¹) Non è qui il caso, nè i nostri mezzi d'indagine permettono di stabilire se si tratti di un nucleoproteide unico o di una miscela di tali proteidi; la composizione però mostra, che in ogni caso si tratterebbe di composti molto affini e di ufficio pure assai simile. Recenti studi di *Malengreau* e di *Huiskamp* sui diversi proteidi del timo lasciano sperare che con metodi più delicati si possa giungere a distinguere nei vari organi diverse di tali sostanze.

elemento attivo nel metabolismo cellulare, e tanto meno quindi un materiale di eliminazioni o di rifiuto.

Che altri composti di ferro sieno contenuti nel protoplasma epatico, non viene escluso dalle presenti ricerche, ma sarà compito di studi ulteriori accertarne l' esistenza e indagarne le proprietà.

Per i rapporti rilevati si potrebbe credere che la ferratina, come gruppo o residuo caratteristico del nucleoproteide, costituisca un indice fedele della presenza e variazioni di questo composto, sì che tutto quanto si è conchiuso dalle svariate prove ed esperienze sulla ferratina naturale si potesse logicamente riferire alla sostanza madre, al nucleoproteide cioè, il quale solo preesiste nella cellula epatica e perciò può prendere solo esso parte ai fenomeni metabolici dell' organismo.

Unicamente ammettendo questa ipotesi resterebbe valore alle esperienze fatte sulla ferratina; ma credo che nessun osservatore prudente, dovendo studiare e seguire le vicende di un qualsivoglia nucleoproteide, avrebbe già *a priori* concessa troppa fiducia all' esame di un prodotto dovuto all' azione alterante della temperatura di ebollizione. Sarebbe assolutamente necessario dimostrare che l' azione della temperatura di ebollizione si esercita sempre coi medesimi risultati, qualitativamente e quantitativamente comparabili. Ma non mancano dati di fatto e considerazioni tali da rendere assai dubbia questa supposizione.

Non vi ha nessuna ragione di credere che la temperatura di ebollizione possa avere effetti diversi a seconda delle condizioni del mezzo in cui si eseguisce, per ciò che riguarda la scissione del nucleoproteide; ma, se la scissione nei due gruppi o residui nominati si può ammettere come invariabile, non così si può dire della sorte successiva di questi due residui, dalla quale dipende in gran parte la separazione loro e la valutazione quantitativa.

La scissione per ebollizione del nucleoproteide deve essere fatta in soluzione *neutra;* in tali condizioni il residuo proteico coagulabile si separa bene in fiocchi; e resta in soluzione il residuo proteide precipitabile per successiva acidifi-

cazione. Ora è noto come variazioni anche lievi della reazione del mezzo abbiano una spiccata influenza sulla coagulazione delle proteine coagulabili, tanto che questa può sin del tutto mancare. Così è che mentre una lievissima acidità favorisce la coagulazione completa del residuo proteico, una acidità per poco eccessiva o, più di tutto, una tenuissima alcalinità del mezzo può ridurre o togliere affatto la coagulazione del detto residuo; nell' ultimo caso si ottiene un liquido del tutto limpido, in cui la parte proteica coagulabile resta disciolta come albuminato e precipita poi insieme al gruppo nucleinico per la successiva acidificazione, alterando profondamente i risultati della ricerca [1]. Non meno notevoli sono gli effetti delle variabili condizioni del mezzo sull' altro prodotto di scissione, che compare come ferratina naturale; l' alcalinità del mezzo (se non altera più profondamente la composizione di questo complesso residuo) modifica i valori quantitativi e di composizione relativa del prodotto, per la ragione detta sopra. Una lievissima acidità del mezzo può agire in senso inverso e sottrarre una parte della ferratina alla determinazione.

Queste circostanze assumono anzi maggior valore se si riferiscono all' estrazione diretta della ferratina dal fegato. Dai diversi autori non si è tenuto conto della reazione del tessuto. Invero l' estrazione eseguita con l' ebollizione del fegato in acqua distillata risponde teoricamente alla condizione richiesta di un mezzo neutro, ma in pratica difficilmente si potrà affermare di avere operato in tale mezzo. Il plasma epatico freschissimo ha sempre reazione alcalina, ma dopo poco tempo dalla morte il tessuto del fegato subisce una specie di coagulazione mentre la sua reazione si fa acida (e questa, in parte almeno, è dovuta ad acido lattico). Senza dilungarmi sulle conseguenze di tali condizioni nella preparazione della ferratina, facili a dedursi del resto, bisogna tener presente un altro fatto che indirettamente ha pure valore, cioè a dire delle

---

[1] Il metodo primitivo usato dal *Marfori* (decozione con acqua lievemente ammoniacale) è una prova di ciò che è qui detto; e lo stesso *Schmiedeberg* (loc. cit.) notava la incostanza dei risultati che si ottenevano con quel metodo.

condizioni di solubilità del nucleoproteide, che nell' ebollizione del fegato deve poi scomporsi: infatti mentre un mezzo lievemente alcalino ne favorisce il discioglimento e l' estrazione dai nuclei cellulari, la reazione acida rapidamente sopravveniente e quella specie di coagulazione che subiscono gli elementi epatici lo rendono in gran parte insolubile, e ciò non può non avere grande influenza sull' effetto dell' ebollizione successiva.

Una prova di ciò si ha nel fatto, che estraendo il fegato fresco con acqua distillata non si ha che una parte del nucleoproteide, ed occorrono altre estrazioni successive con soluzioni alcaline diluitissime per toglierlo completamente.

Non parlo poi dell' influenza di alterazioni più profonde del tessuto epatico dovute a processi morbosi o putrefattivi più o meno avanzati post-mortali. In tali condizioni, che si riscontrano specialmente nelle ricerche del *Vay*, non è affatto possibile stabilire le condizioni di estrazione per ogni singolo caso, nè si può nemmeno lontanamente giudicare quale valore possono avere i relativi dati analitici. Più facili relativamente ad apprezzarsi sono i risultati degli autori che operarono su fegati di animali in condizioni meglio definite. Le determinazioni comparative fatte su diverse porzioni di fegato fresco, nello stesso tempo, danno risultati abbastanza concordi sia nel rispetto qualitativo che in quello quantitativo. Ma basta lasciare a sè lo stesso tessuto per quaiche tempo, perchè i risultati varino già notevolmente.

Quanto al valore che si può attribuire alla ferratina come composto speciale del ferro, oltre alle considerazioni generali sulla sua genesi e natura, bisogna tener conto di altri fatti. Il suo elevato contenuto percentuale di ferro, quale *Schmiiedeberg* e *Marfori* avevano pubblicato, metteva la ferratina in prima fila fra questi composti organici. Però le ricerche posteriori concordemente hanno fatto vedere che, salvo casi eccezionali, il contenuto percentuale di ferro sta assai al di sotto del valore dato dai primi autori. Io non sono mai riescito, da prodotti che offrissero sufficiente garanzia di purezza, ad ottenere percentuali così elevate. Ma un fatto più interessante fu notato già dal *Vay*, e che contrasta assai con la pretesa sta-

bilità o resistenza di tale composto organico di ferro, e cioè che la ferratina, nelle successive dissoluzioni e precipitazioni necessarie a purificarla perde sempre del ferro; questo è un fatto costante che ho potuto verificare, e che infirma assai il valore dei risultati analitici, com'è facile comprendere.

A questo bisogna aggiungere l'altro fatto, che si desume dal comportamento del nucleoproteide verso l'ebollizione; ho notato che nella scissione del nucleoproteide per ebollizione non tutto il ferro rimane legato al prodotto solubile, che corrisponde alla ferratina, ma una parte si ritrova nelle ceneri della parte proteica coagulata. È fuori di dubbio che questo si deve verificare anche nell'estrazione diretta della ferratina dal tessuto epatico, dove anzi l'effetto dell'ebollizione può essere complicato dalle diverse condizioni del mezzo, e prima di tutto dalla reazione; così che mentre da un lato del ferro nucleoproteico resterà nel coagulo, la ferratina stessa può perderne parte del proprio.

Queste osservazioni anzi gettano una certa luce su molti risultati analitici pubblicati, riguardanti la ripartizione del ferro epatico, e sui quali non è d'uopo insistere. Giova anche notare che, con un mezzo così alterante per le materie proteiche, qual'è la ebollizione, non si può escludere che i modi o rapporti di combinazione del ferro con la sostanza originaria non vengano alterati o comechessia modificati, e che al prodotto separato come ferratina non possano anche mescolarsi altre materie proteiche e legarsi pure del ferro proveniente da altra sorgente.

Istituto di Patologia generale di Firenze, diretto dal Prof. A. Lustig.

# INTORNO ALL'AZIONE DI UN MICRORGANISMO PATOGENO

## ISOLATO DAL « MUREX BRANDARIS » SUI TESSUTI ANIMALI.

**DOTT. N. TIBERTI**

Aiuto.

Lo scorso anno, dietro richiesta del Prof. *A. Lustig*, furono inviati a questo Istituto alcuni esemplari di *Murex brandaris* (erroneamente chiamato da alcuni *bradatus* o *brandatus*) pescati ad Isola, nel distretto di Capodistria, dove nel novembre del 1900 si erano verificati alcuni casi di grave intossicazione, in seguito ad ingestione di questi molluschi, che vengono colà designati col nome di *garruse*. Le persone che andarono incontro a questo avvelenamento furono 43 e presentarono dolori alla regione epigastrica, vomito, cefalea, sete intensa, ematuria, convulsioni, leggeri eritemi, epistassi, difficoltà nell'articolare la favella, esaurimento muscolare, assopimento, fenomeni paralitici, coma. In cinque casi si verificò la morte. Tutti i malati ebbero itterizia più o meno marcata che si manifestò fra il 3° e 5° giorno dall'esordire dei fenomeni morbosi. Nella maggior parte dei casi si verificarono scariche diarroiche; in altri l'alvo si chiuse e questi furono i casi più gravi.

Alla necroscopia fu riscontrato: tinta itterica con qualche rara petecchia sulla cute. Nel tessuto sottocutaneo e muscolare, nelle sierose e specie nel mesenterio, alla base del cuore, nella pleura diaframmatica, una enorme quantità di ecchimosi e suffusioni sanguigne, degenerazione grassa del fegato, del miocardio e dei reni. La mucosa intestinale si presentava iperemica. L'analisi chimica degli organi di uno dei

morti fece escludere qualsiasi avvelenamento per sostanze minerali o vegetali.

Non restava quindi che sospettare che i fenomeni di intossicazione derivassero dalla ingestione dei murici.

Gli esemplari di Murici inviati in questo Laboratorio furono pescati nella stessa località donde provennero quelli che furono causa dei fatali accidenti, e a pochi giorni di distanza dal manifestarsi di questi.

Dai murici in parola *Galeotti* e *Zardo* (1) ricavarono culture pure di un microrganismo, del quale essi determinarono le proprietà morfologiche e biologiche. In una prima serie di esperienze essi inocularono questo microrganismo negli animali, i quali costantemente morirono. A distanza di alcuni mesi praticarono una seconda serie di esperienze con murici provenienti dalla solita località, ed anche questa volta isolarono un microrganismo, il quale però dapprima era patogeno per i soli topi.

Con successivi passaggi attraverso questi animali, mi riuscì di ridonare al microrganismo la sua virulenza per i conigli e le cavie, il che io feci per studiare in questi animali le alterazioni istologiche provocate dal microbio isolato da *Galeotti* e *Zardo* (2).

## Ricerche sperimentali col bacillo del « Murex br. » e coi suoi prodotti tossici.

Col microrganismo in parola inoculai sei conigli e quattro cavie. Due conigli furono inoculati nella vena marginale dell'orecchio con circa 3 cc. di cultura anaerobica in brodo (24 ore di sviluppo) del bacillo ricavato dai murici.

Due furono inoculati nella cavità peritoneale e due sottocute colla stessa quantità di cultura. Parimenti in due cavie la cultura fu iniettata sottocute, in due nel peritoneo. Aggiungo

(1) Per maggiori particolari intorno al decorso della malattia vedi GALEOTTI e ZARDO, *Su di un microrganismo patogeno isolato dal « Murex br. »*. (Sperimentale, Anno LVI, 1902, fasc. I).

(2) Nella pubblicazione di *Galeotti* e *Zardo* si trovano tutti i dati batteriologici intorno a questo bacillo, che per amor di brevità non vengono qui riprodotti

a queste esperienze alcune di quelle che fece lo scorso anno in questo Laboratorio il Dott. *Zardo*, che per via ipodermica, peritoneale e gastrica (cogli alimenti) infettò parecchi conigli e cavie col bacillo in parola. In altri conigli egli inoculò culture filtrate dello stesso microbio [1]. Lo studio degli organi di questi animali giovò grandemente alle mie osservazioni.

Degli animali sui quali io ho esperimentato, due conigli inoculati per la via circolatoria morirono uno dopo otto, l'altro dopo 17 giorni dalla inoculazione. Dei due inoculati nel peritoneo, uno morì dopo quindici giorni, l'altro dopo un mese. Di quelli inoculati sottocute uno morì dopo un mese e mezzo, l'altro sopravvisse. Delle quattro cavie, le due inoculate nel peritoneo morirono una dopo 25 giorni, l'altra dopo un mese; delle due inoculate sottocute, una morì dopo un mese, l'altra sopravvisse.

## Descrizione dei fenomeni morbosi e delle lesioni anatomiche osservate negli animali di esperimento.

Essendo la natura delle lesioni da me riscontrate pressochè identica in tutti i casi, variando solo la gravità dei processi morbosi in rapporto colla durata della malattia, per amore di brevità io esporrò in maniera sintetica i fatti da me osservati, senza riferire particolarmente ciò che osservai nei singoli animali, con che, oltre a riuscire lungo e tedioso, sarei costretto a ripetermi continuamente.

In generale, tanto i conigli, quanto le cavie non presentavano fenomeni notevoli nei primi giorni consecutivi alla inoculazione di 3 cc. di cultura in brodo del microrganismo in questione. Successivamente essi perdevano l'appetito, rispondevano poco agli stimoli, se ne stavano rincantucciati nella loro gabbia. L'abbattimento si faceva ognora più notevole, fino a che gli animali cadevano in una specie di sopore, cui seguiva la morte. In quasi tutti gli animali, specialmente nei conigli inoculati per la via circolatoria, l'esito letale fu preceduto da

[1] V. la pubblicazione di Galeotti e Zardo, loc. cit.

fenomeni nervosi, consistenti in convulsioni, accompagnate da profondi gemiti, esagerazione dei riflessi e opistotono.

Negli animali che sopravvissero più a lungo alla inoculazione del microrganismo, il fatto più notevole era il profondo grado di denutrizione e di generale distrofia.

Il pannicolo adiposo era quasi totalmente scomparso; le masse muscolari esili e floscie.

Il pelo si staccava colla massima facilità. In quasi tutti gli animali morti praticai dal sangue del cuore culture aerobie ed anaerobiche, ricavando in ogni caso il caratteristico bacillo isolato da *Galeotti* e *Zardo*.

Ecco in breve quali furono le lesioni da me riscontrate negli organi degli animali sui quali sperimentai.

Colpito dal fatto che, almeno nella maggioranza dei casi, i fenomeni nervosi predominavano di gran lunga su tutti gli altri nel quadro morboso, io rivolsi particolarmente la mia attenzione all'esame del *sistema nervoso*. La necroscopia venne generalmente praticata subito dopo la morte: in qualche caso solo qualche ora dopo. Macroscopicamente non mi fu dato notare che un aumento del liquido cefalo-rachidiano e un certo grado di iperemia dei centri nervosi. Fissai i pezzi di sistema nervoso, parte in soluzione satura di sublimato, parte in una miscela a dosi uguali di soluzioni sature di sublimato ed acido picrico. Inclusi i pezzi in paraffina e colorai le sezioni seguendo il metodo di *Nissl*, colla modificazione che al bleu di metile fu sostituita la soluzione satura di toluidina, con che viene a semplificarsi il processo e si hanno degli eccellenti risultati.

Le *alterazioni istologiche da me riscontrate nei centri nervosi* delle cavie e dei conigli, inoculati col bacillo ricavato dai murici, sono quelle stesse che si sogliono riscontrare in seguito ad avvelenamenti acuti e subacuti. È da notarsi però che il numero delle cellule colpite dalle alterazioni, che or ora descriverò, non è rilevantissimo ed in ogni modo non è proporzionale alla intensità dei fenomeni che gli animali presentarono durante la vita. Accanto a cellule alterate si riscontrano cellule di aspetto normale; ma la presenza costante

di cellule alterate in tutte le parti del sistema nervoso da me esaminate, non mi lascia dubbi circa la causa di queste alterazioni ed è perciò che credo opportuno descriverle.

Mi sono limitato ad esaminare la corteccia cerebrale, il midollo spinale ed i gangli spinali, come quelle parti del sistema nervoso, nelle quali le alterazioni citologiche sono più agevolmente rilevabili, essendo queste parti costituite di cellule di cui meglio si conosce il tipo normale ([1]).

Nella *zona corticale motrice* la lesione più manifesta è il rigonfiamento, che in alcune cellule piramidali medie e piccole raggiunge un grado molto considerevole. Le grandi cellule piramidali non presentano alterazioni evidenti.

Nel *midollo spinale* (regione cervicale e lombare), tanto le cellule delle corna anteriori, quanto quelle delle posteriori sono variamente alterate. Alcune presentano dei vacuoli più o meno voluminosi nel loro protoplasma, tanto da acquistare un aspetto spugnoso. In alcune di queste cellule le zolle cromatiche sono finamente spezzettate, ridotte cioè in granuli che si diffondono uniformemente nel citoplasma, in guisa che questo resta uniformemente colorato.

Nelle cellule che presentano queste alterazioni in maggior grado, il nucleo è come raggrinzato e colorato più intensamente, di guisa che il nucleolo si distingue poco bene. In alcune cellule la sostanza cromatica è straordinariamente ridotta. In altre le zolle di sostanza cromatica, che di solito hanno forma affusata o triangolare, acquistano una forma rotondeggiante, di grandezza notevole.

Altre cellule infine presentano nel loro protoplasma delle screpolature, analoghe a quelle descritte da *Nageotte* e *Ettlinger* nell'avvelenamento per ioduro di potassio, nell'uremia ed in altri stati morbosi. Poche alterazioni presenta il nucleo in questi casi.

Nelle cellule dei *gangli spinali* non si notano alterazioni di sorta.

---

([1]) Ringrazio il dott. *Lugaro* che, come è noto, si occupa da molti anni della patologia delle cellule nervose (vedi *Rivista di Patologia nervosa e mentale*, Firenze, 1895-1902), ch' ebbe la cortesia di esaminare meco alcuni dei miei preparati microscopici.

*Miocardio.* — Nella maggior parte degli animali non presenta alterazioni degne di nota. In un caso si ha una alterazione delle fibre muscolari che presenta i caratteri fisici della metamorfosi cerea. In qualche altro, lieve grado di degenerazione grassa.

*Polmoni.* — Macroscopicamente si trovano in tutti i casi focolaj di colorito bruno, di forma conica, alquanto duri, non aereati (infarti).

Microscopicamente nell'interno degli alveoli polmonari, in corrispondenza di questi focolai si notano numerosi globuli rossi, scarsi globuli bianchi e filamenti di fibrina. Anche negli spazi interalveolari si nota la presenza di sangue.

L'epitelio degli alveoli è in alcuni punti normale, in altri è in preda a necrosi jalina. Nel resto del parenchima polmonare non occupato da questi focolai si nota dilatazione dei vasi che sono ripieni di sangue.

*Fegato.* — In tutti gli animali il fegato offre le maggiori alterazioni. Macroscopicamente esso si presenta coi caratteri del fegato da stasi.

All'esame microscopico oltre i fatti di stasi (dilatazione della vena centrale e dei capillari del lobulo) si notano numerosi focolai emorragici, di varia grandezza, sparsi qua e là nel parenchima epatico. In tutti i casi si ha rigonfiamento torbido delle cellule; in due casi (in quelli nei quali il microrganismo fu introdotto per la via digerente) notasi un lieve grado di degenerazione grassa.

Le lesioni più cospicue furono riscontrate nel fegato di un coniglio, che inoculato per la via venosa con 3 cc. di cultura in brodo del bacillo dei murici il 31 dicembre 1901, morì il 17 gennaio successivo, in preda a sintomi nervosi imponenti. In questo caso il fegato presenta, oltre i focolai emorragici notati più sopra, dei focolai di necrosi granulare, nei quali non è dato più riconoscere la struttura degli elementi cellulari. In altri punti si ha degenerazione vacuolare evidentissima, espressione di una parziale disorganizzazione del protoplasma, unita probabilmente ad una sovrabbondate imbibizione di liquido. Pochi sono i lobuli epatici rimasti integri. Il connettivo inter ed

intra-lobulare è fortemente aumentato, e in mezzo ad esso notasi un gran numero di canalicoli biliari alcuni molto piccoli, altri di calibro notevole, costituiti da una parete di cellule cubiche schiacciate e da una membrana connettivale propria. In alcuni punti il numero di questi canalicoli è così grande da dare al tessuto un aspetto adenomatoso.

*Milza.* — All'esame macroscopico non si presenta in generale notevolmente aumentata di volume. Il suo colorito è rosso scuro; in alcuni casi l'organo è facilmente spappolabile. Al taglio dà succo abbondante sanguinolento. Sulle superfici di taglio spiccano molto distintamente i corpuscoli di Malpighi. Nel coniglio di cui ho parlato più sopra e nel quale furono riscontrati fatti di cirrosi nel fegato, la milza presentava i caratteri della milza da stasi. All'esame microscopico i follicoli malpighiani si presentano infiltrati di leucociti; qua e là nella polpa splenica si trovano focolai emorragici di diversa grandezza.

*Reni.* — Macroscopicamente sono aumentati di volume; la capsula si distacca con facilità; le superfici di taglio danno succo abbondante. All'esame microscopico si nota rigonfiamento più o meno accentuato dell'epitelio dei canalicoli contorti. Le maggiori alterazioni degli epiteli si hanno in quegli animali nei quali il microrganismo fu inoculato per la via circolatoria. Gli elementi cellulari sono rigonfi in guisa da riempire completamente il lume dei canalicoli; il loro protoplasma si presenta finamente granuloso. In alcune cellule non si scorge più il nucleo; in altre il nucleo è fortemente raggrinzato e poco colorabile coi colori nucleari. In alcuni canalicoli le cellule si sono fuse insieme e si sono staccate completamente dalla membrana basale del tubulo; in altri non vi è più traccia di elementi epiteliali, che sono stati completamente distrutti. Focolai emorragici si scorgono tanto nella sostanza corticale, quanto nella midollare. Alcuni glomeruli sono letteralmente gremiti di globuli rossi.

Negli animali in cui il microrganismo fu introdotto per via gastrica si nota un lieve grado di degenerazione grassa dell'epitelio dei canalicoli contorti.

*Stomaco.* — Negli animali infettati per la via circolatoria, sottocutanea e peritoneale nulla si riscontra di anormale nello stomaco. In quelli nei quali l'infezione fu determinata per via gastrica, macroscopicamente la mucosa presenta un notevole grado di iperemia; qua e là piccoli focolai emorragici sottomucosi. In alcuni punti si hanno delle abrasioni epiteliali. All'esame microscopico, l'epitelio di rivestimento è in massima parte ben conservato: in qualche punto è sfaldato. Le cellule epiteliali non presentano che un leggiero grado di rigonfiamento. Il nucleo è ben conservato e assume bene le sostanze coloranti. Anche l'epitelio ghiandolare non offre particolari alterazioni. Nella sottomucosa si ha infiltrazione parvicellulare in modico grado.

*Intestino.* — Tutte le porzioni dell'intestino, specialmente l'ileo, si presentano arrossate; si notano le solite emorragie sottomucose.

Microscopicamente: l'epitelio di rivestimento è solo in pochi punti ben conservato; in più punti è completamente staccato dalla sottostante mucosa. Le cellule si presentano notevolmente rigonfie. I villi e i follicoli linfatici si presentano infiltrati e parimenti infiltrata è la sottomucosa [1].

## Considerazioni e riassunto.

Riassumendo dunque, la lesione più frequente da me riscontrata nel sistema nervoso è la tumefazione del protoplasma cellulare, dovuta al raccogliersi di una sostanza liquida nell'interno della cellula. Questa alterazione non è delle più gravi, in quanto che essa può verificarsi, oltrechè per avvelenamenti con le più differenti sostanze (*Lugaro* ed altri), anche in seguito al prolungato affaticamento ed è suscettibile di completa riparazione. Lo stesso dicasi delle altre alterazioni da me descritte, le quali in ogni modo non si riscontrano in un numero così grande di elementi cellulari da far ritenere che

[1] Alcuni dei più importanti preparati microscopici vennero presentati all'Accademia medico-fisica nell'adunanza del 20 maggio 1902.

esse abbiano determinata la morte degli animali, la quale invece è dovuta alle profonde alterazioni riscontrate negli altri organi.

Ben più gravi sono le lesioni riscontrate nel sistema nervoso centrale di animali morti per botulismo. Queste alterazioni sono state studiate recentemente da *Marinesco*, *Kempner* e *Pollack*, *Ossipoff*.

*Marinesco* ha riscontrato rarefazione e scomparsa degli elementi cromatofili; disintegrazione granulare o cromatolisi e formazione di lacune nell' interno delle cellule in seguito a distruzione della sostanza acromatica. Egli inoltre ha constatato l' aumento di numero delle cellule di nevroglia, cui attribuisce una funzione fagocitaria, cosa che non è stata osservata da *Kempner* e *Pollack*, i quali del resto nelle loro ricerche sono venuti presso a poco alle medesime conclusioni di *Marinesco*, mettendo in evidenza il fatto che le cellule nervose non sono tutte alterate con uguale intensità. *Ossipoff* ha osservato maggiori alterazioni nelle cellule delle corna anteriori che in quelle delle corna posteriori. Le lesioni consistevano in tumefazione e cambiamento della disposizione normale della sostanza cromatofila; disgregamento dei corpuscoli di *Nissl*, di guisa che il protoplasma acquista un aspetto finamente granuloso; in seguito si ha completa scomparsa della sostanza cromatica. Queste alterazioni del protoplasma vanno accompagnate da alterazioni del nucleo e del nucleolo, consistenti in una colorazione molto intensa di essi, atrofia del nucleò, spostamento del nucleo e del nucleolo alla periferia della cellula e, in un periodo avanzato, scomparsa di essi dalla cellula. Poco modificate si presentavano le cellule della corteccia cerebrale. Le cellule dei gangli intervertebrali subivano le stesse modificazioni delle cellule della midolla spinale; solo queste modificazioni si verificavano in minor grado.

Nel fegato abbiamo notato gravi alterazioni degenerative e necrotiche, accompagnate da neoformazione più o meno abbondante, in un caso abbondantissima, di tessuto connettivo. In mezzo a questo connettivo si riscontrano numerosi dotti biliari neoformati.

Quale interpretazione è da darsi loro?

Tre ipotesi possono essere formulate a questo riguardo: o che i canalicoli interacinosi per la distruzione del parenchima epatico risultino più evidenti, o che si tratti di cellule epatiche atrofiche, o che essi rappresentino fenomeni rigenerativi.

La rigenerazione di una parte del fegato è stato dimostrato verificarsi nell' atrofia giallo-acuta. *Schlichthorst* si è occupato della questione e crede di poter concludere per una rigenerazione del parenchima epatico. *Doenz* descrive una proliferazione di canalicoli neoformati negli spazi lasciati liberi per la distruzione delle cellule epatiche, ma egli non potè osservare una trasformazione delle cellule epatiche in cellule dei dotti biliari e viceversa. *Stroebe* in un caso di cirrosi ipertrofica trovò numerosi dotti biliari neoformati alla periferia dei lobuli, dotti che si spingevano più o meno fra le trabecole di cellule epatiche e mostravano una più o meno completa trasformazione in cellule epatiche.

Della rigenerazione del fegato in seguito a processi acuti si occuparono *Meder*, *Marchand*, *Stroebe*, *Kretz*, e dalle loro ricerche risulta che in questi casi i processi rigenerativi si verificano per una moltiplicazione delle cellule dei lobuli rimasti integri. In pari tempo si ha proliferazione delle vie biliari interacinose che, secondo alcuni, si trasformerebbero in cordoni di cellule epatiche.

In base all' osservazione dei miei preparati, io ritengo che la presenza in così gran numero di dotti biliari neoformati rappresenti un tentativo di rigenerazione del tessuto epatico. Si sa infatti che il fegato possiede in alto grado la facoltà rigenerativa, in guisa che si possono asportare in un animale $^2/_3$ del fegato ed avere dopo poco tempo nuovamente un organo di volume normale. Inoltre nei miei preparati si osserva che, dove i fatti degenerativi e necrotici sono meno accentuati e più scarsa è la neoformazione del connettivo, meno numerosi sono i canalicoli biliari neoformati. Il numero di questi cioè è costantemente proporzionale alla intensità e alla estensione della lesione epatica. Questo argomento mi pare sia favorevole all'ipotesi che la neoformazione dei canalicoli biliari sia il primo passo alla rigenerazione del parenchima epatico.

A questa neoformazione di canalicoli biliari segue la neoformazione di lobuli. *Marchand* infatti ha pubblicato casi nei quali, essendo la malattia epatica durata molti giorni, alla necroscopia si ritrovò una neoformazione vera e propria di lobuli. È questo certamente il meccanismo col quale, in seguito a distruzione del parenchima epatico, l' organo riacquista il suo volume primitivo.

In complesso le lesioni da me riscontrate nei visceri degli animali morti per inoculazione del bacillo ricavato dai murici, sono molto analoghe a quelle riscontrate nella specie umana in casi di avvelenamento per carni guaste e per ostriche, e negli animali per inoculazione di microbi ricavati da materiale che aveva determinato sintomi di quell' affezione che va sotto il nome generico di *botulismo.*

*Van Ermengem* infatti in casi di avvelenamento per prosciutto alterato riscontrò iperemia ed emorragie renali. Degenerazione grassa del fegato (che invero nel caso nostro si è verificata solo nei casi in cui l'infezione fu determinata per le vie digerenti ed anche allora si è manifestata in modico grado); iperemia e catarro desquamativo dello stomaco; miocardite; lesioni delle cellule del cervello e del midollo spinale.

*Gärtner* in un caso di avvelenamento per carne guasta trovò alla necroscopia arrossamento dell' intestino, emorragie dello stomaco e dell' intestino, rigonfiamento dei follicoli e delle placche del Peyer. Dal materiale infetto *Gärtner* isolò un microrganismo cui dette il nome di *B. enteritidis* che inoculato in topi, cavie e conigli dette luogo a fenomeni di enterite emorragica.

*Gaffky* e *Pack*, in un caso di avvelenamento per carne di cavallo e salsiccia, riscontrarono i caratteri di una grave enterite. Col bacillo ricavato da questo materiale inocularono gli animali da esperimento e ottennero enterite emorragica con ulcerazioni e ascessi nella milza.

*Virchow*, in casi di avvelenamento per mitili, osservò, al tavolo anatomico, infiltrazione edematosa ed ecchimosi nel tubo digerente e nella milza; grave degenerazione del cuore, del fegato e dei reni. Nel fegato esistevano numerosi infarti emorragici.

Per avvelenamento da ostriche, *Brosh* riscontrò edema ed ecchimosi delle meningi. Emorragie nel pericardio, nella pleura, nello stomaco; degenerazioni in vari visceri.

*Lustig* dal fegato di alcuni mytilus, ritenuti velenosi per i loro caratteri e per le loro proprietà, isolò un microrganismo col quale infettò conigli e cavie per la via digerente. Tutti i conigli morirono in due a dodici giorni in preda a forti e continue scariche diarroiche. Alla necroscopia fu ritrovato: cervello, fegato, milza, reni iperemici; edema polmonare; la mucosa del digiuno e dell'ileo fortemente iniettata in alcuni punti, tumefatta e coperta di muco. Le stesse lesioni furono riscontrate negli animali infettati per la via peritoneale. L'inoculazione per via ipodermica rimase senza effetto.

*Zardo* isolò dal *Mytilus edulis* un microorganismo col quale infettò gli animali per via ipodermica, peritoneale e digerente. Esperimentò anche col nucleoproteide di questo microrganismo, ed in tutti i casi le lesioni riscontrate nei visceri furono presso a poco identiche: alterazioni emorragiche, infiammatorie e degenerative dello stomaco. Rigonfiamento torbido, degenerazione grassa, processi necrotici in vari visceri.

Come si vede dalla breve esposizione di questi dati bibliografici, la maggior parte delle lesioni, da me riscontrate, trovano perfetta analogia con quelle descritte da altri in casi di gravi intossicazioni per sostanze alimentari e di infezioni da microrganismi ricavati da queste sostanze. Di speciale interesse credo siano i fatti emorragici da me riscontrati nei vari organi, poichè in base ad essi forse si potrebbe ascrivere il bacillo isolato dal *Murex brandaris* da *Galeotti* e *Zardo* e da me adoperato per le mie ricerche, al gruppo dei microrganismi della *setticemia emorragica.*

## Bibliografia

NAGEOTTE e ETTLINGER, Lésions des cellules nerveuses au cours de diverses intoxications et auto-intoxication. (La Presse Médicale, n. 25, 1898).

LUGARO, Sulle alterazioni degli elementi nervosi negli avvelenamenti per arsenico e per piombo. (Rivista di Patologia nervosa e mentale, vol. 2°, fasc. 2°, 1897).

ZONDER, Sulle alterazioni degli elementi nervosi nell'avvelenamento subacuto per alluminio. (Ibidem, vol. 4°, fasc. 8°, 1899).

GUERRINI, Delle minute modificazioni di struttura della cellula nervosa corticale nella fatica. (Ibidem, vol. 5°, fasc. 1°, 1900).

CAMIA, Sulle modificazioni acute delle cellule nervose per azione di sostanze convulsivanti e narcotizzanti. (Ibidem, vol 6°, fasc. 1°, 1901).

MARINESCO, Lésions des centres nerveux produites par la toxine du bacillus botulinus. (Comptes rendus hebdomadaires des séances et Memoires de la Société de biologie, 1896, Paris, T. III, p. 989-991; Presse médicale, 1887, n. 8).

KEMPNER und POLLACK, Die Wirkung des Botulismustoxins (Fleischgiftes) und seines specifischen Antitoxins auf die Nervenzellen. (Deutsche medicinische Wochenschrift, 1897, 23 Jahrgang, n. 32).

OSSIPOFF, Influence de l' intoxication botulinique sur le système nerveux central. (Annales de l'Institut Pasteur, T. XIV, 1900, p. 769).

SCHLICHTHORST, Ueber die Lebercirrhose im kindlichen jugendlichen Alter. (Inaug. Diss. med. Marburg, 1897-98).

DOENZ, Ueber die Beziehungen neugebildeter Gallengänge zu den Leberzellen bei intra-acinöser Lebercirrhose. (Inaug.-Diss. Zürich, 1896).

STROEBE, Zur Kenntniss des sog. akuten Leberatrophie, ihrer Histogenese und Aetiologie, mit besonderer Berücksichtigung der Spätstadien. (Zieglers Beitr., Bd. XXI, S. 378).

MEDER, Ueber akute Leberatrophie, mit besonderer Berücksichtigung der dabei beobachteten Regenerationserscheinungen. (Zieglers Beitr., Bd. 17, S. 143, 1895).

MARCHAND, Ueber Ausgang der akuten Leberatrophie in multiple knotige Hyperplasie, (Zieglers Beiträge zur pathol. Anat. und allgem. Pathol., Bd. XVII, H. 1, S. 206-219, 1895).

KRETZ, Ueber Hypertrophie und Regeneration des Lebergewebes. (Wien. klin. Wochenschrift, S. 365, 1894).

VAN ERMENGEM, Untersuchungen über Fälle von Fleischvergiftung mit Symptomen von Botulismus. (Ctbl. f. Bakter., vol. 19. pag. 442).

ID., Ueber einen neuen anaëroben Bacillus und seine Beziehungen zum Botulismus. (Zeitschr. f. Hygiene, vol. 24, p. 1).

GAERTNER, Ueber die Fleischvergiftung in Frankenbanen am Kyffhäuser und der Erreger derselben. (Korrespondenzbl. des Allg. ärztl. Ver. in Thüringen).

GAFFKY e PAAK, Ein Beitrag zur Frage der supuranten Wunde, und Fleischvergiftungen. (Arb. aus dem Kais. Gesundheitsamt, 1900).

VIRCHOW, Rapporto sulla epidemia di Wilhelmshaven. (Riferito da *Brieger* nell'opera: Microbes ptomaines et maladies, Paris, 1887).

BROSCH, Austervergiftung. (Wiener-Klin. Wochensch., 1896, n. 313).

LUSTIG, I microrganismi del *Mytilus edulis*. (Arch. per le Scienze mediche, Vol. XII, n. 17).

ZARDO, Di un microrganismo isolato dal *Mytilus Edulis*. (Lo Sperimentale, anno LV, fasc. 2°).

# RENDICONTI

DELLE

# ADUNANZE DELL'ACCADEMIA MEDICO-FISICA FIORENTINA

## Resoconto sommario delle sedute.

### Adunanza pubblica del dì 28 Gennaio 1902.

Presiede il Prof. G. FANO, *Presidente.*

Sono presenti i Soci: Azzurrini, Baduel, Bufalini, Banchi, Banti, Bottazzi, Bessone, Capei M., Comba, Chiarugi, Daddi, Flora, Giuntoli, Guidi, Guaita, Giarrè, Jaja, Luisada, Livini, Mya, Marcacci, Pieraccini, Pacchioni, Picchi, Pestalozza, Radaeli, Silvestrini, Tanzi, Tonarelli.

Il prof. **Fano** rivolge parole di ringraziamento all'assemblea per la sua elezione a Presidente dell'Accademia, e quindi comunica che è stato aperto il concorso al premio Galligo per lavori di sifilografia e pediatria con scadenza al 31 gennaio 1903.

**Prof. G. Mya.** — *Ascaridiasi e tricocefaliasi gravi in bambina geofaga con invasione di numerosi ascaridi nelle vie biliari e consecutiva produzione di multipli ascessi epatici e di un voluminoso ascesso pericolico.*

Bambina d'anni 5, entrata in Clinica il giorno 5 gennaio 1902. Scevra di qualsiasi precedente ereditario. Ha contratto l'abitudine della geofagia 6 mesi or sono. Soffre di nausee e vomito da 3 mesi, e contemporaneamente ha cominciato ad emettere quasi ogni giorno numerosi ascaridi (da 20 a 30). Le feci sono sempre diarroiche. Rapido deperimento ed anemia.

All'ingresso nella Clinica pesa Kgr. 10. Emoglobina 5 %; ferro nel sangue 0,19 ‰; emazie 2,000,000 circa in mm$^3$; globuli bianchi 34,822 in mm$^3$ costituiti in prevalenza da elementi polimorfonucleati.

Emaciazione portata al suo massimo grado; segni soggettivi di notevole sofferenza; rantoli umidi nell'ambito toracico posteriore e late-

rale; ingrossamento lieve del fegato; segni di una raccolta purulenta nel quadrante inferiore destro, estendentesi in alto sino a raggiungere il margine inferiore del fegato. Alito con odore marcatissimo di acetone; urine lievemente albuminose con quantità considerevoli di acetone e di acido diacetico; traccie deboli di urobilina; assenza di glucosio; diazoreazione positiva, feci di aspetto cretaceo, sciolte; al microscopio cristalli di saponi ed acidi grassi; numerosissime uova di tricocefalo, circa un centinaio per preparato; e di ascaride lombricoide, circa una ventina.

La bambina soggiornò nella Clinica 9 giorni; e morì con sintomi di broncopolmonite diffusa, comparsa il giorno prima della morte.

In questo periodo continuò rapido il dimagramento; la bambina perdette altri 150 gr., ed emise complessivamente 17 ascaridi; si notò pure: un evidente ingrossamento del fegato verificatosi nella notte dall'8 al 9 gennaio; la persistenza dell'acetonuria e della diaceturia sino al giorno 11, in cui scomparvero dapprima le reazioni dell'acido diacetico e successivamente quelle dell'acetone. Notevole pure una forte urobilinuria comparsa il 9 gennaio in rapporto coll'ingrossamento epatico, mentre le reazioni della bilina fecale furono sempre piuttosto scarse. L'albumina nelle urine scomparve con la scomparsa della diaceturia.

Altro fatto importante fu il decorso apiretico; anzi ipotermico negli ultimi 3 giorni di vita, nonostante l'aggiunta della broncopolmonite ai fatti preesistenti. La bambina si spense il giorno 14 gennaio senza fenomeni convulsivi, che non aveva mai del resto presentato durante l'intiero decorso della malattia.

Al tavolo anatomico si notò una denutrizione marcatissima, con scomparsa completa del pannicolo adiposo ed atrofia muscolare imponente. Raccolta purulenta saccata pluriloculare tra le anse del tenue, il colon ascendente, e la faccia inferiore del lobo destro del fegato; tale raccolta si estende anche posteriormente al lobo destro del fegato. Broncopolmonite bilaterale diffusa, fegato aumentato di volume, aderente colla capsula al diaframma e ricoperto alla faccia inferiore e alla parte posteriore della faccia superiore da stratificazioni fibrinose. In varii punti si notano all'esterno delle macchie grigio-giallastre: praticando in questi punti delle sezioni si trovano i dotti biliari molto dilatati e ripieni di ascaridi lombricoidi. Nella faccia superiore verso la parte posteriore queste zone giallastre confluiscono sino a formare una raccolta fibrino-purulenta che arriva sino alla capsula scollata estesamente e ricoperta estesamente da densi strati fibrinosi che chiudono in alto la raccolta purulenta saccata endoperitoneale. Il numero degli ascaridi presenti in tutte le ramificazioni biliari è veramente straordinario: in alcuni canali se ne trovano 3 e perfino 4 situati parallelamente; si possono valutare a un dipresso in numero di 40. Il coledoco, il cistico e l'epatico sono addirittura zaffati da ascaridi, di cui è gremito tutto l'intestino tenue. La mucosa del crasso, dal cieco al retto è invece

cosparsa d'innumerevoli tricocefali, che sono certamente in numero di parecchie centinaia. La mucosa del crasso è tumida, fortemente iperemica, in varî punti esulcerata. Si ha degenerazione grassa in varî punti del parenchima epatico.

Sezionando il fegato a scopo di esame istologico nei punti in cui esistono gli ascaridi nel lume di un piccolo canale biliare, ed attorno si ha l'infiltrazione purulenta e colorandoli con il liquido di Löffler si osserva l'ascaride situato centralmente ripieno di microrganismi, in cui prevalgono le forme bacillari. Il lume del canale biliare contiene un discreto numero di globuli purulenti e numerosi bacilli; tutt'all'ingiro il parenchima epatico presenta per un certo tratto distruzione delle cellule epatiche e sostituzione di queste con globuli di pus; ad una certa distanza dal canale ascaridifero cessa l'infiltrazione purulenta e gli acini biliari si presentano fortemente iperemici, e in alcuni punti si notano estese emorragie. È notevole il fatto che in tutto il parenchima epatico, a distanza maggiore o minore da queste zone di necrosi con infiltrazione purulenta peribiliare ed ascaride centrale, si hanno i segni di una rigogliosissima neoformazione di canalicoli biliari, che conferisce un aspetto caratteristico alla struttura del fegato. Dappertutto, dove il parenchima epatico è risparmiato dall'invasione purulenta esistono i segni di una intensa degenerazione grassa.

L'O. ha comunicato all'Accademia questo caso, perchè lo ritiene molto raro ed interessante. Esistono nella letteratura varî casi di penetrazione di ascaridi nelle vie biliari, ed è probabile che questo reperto si sia non di rado presentato a chi ha pratica estesa di sezioni cadaveriche: ciò nullameno una simile abbondanza di ascaridi presenti nelle vie biliari dev'essere oltremodo rara. Nel nostro caso la penetrazione degli elminti avvenne indubbiamente ad una certa distanza dall'esito letale; ad essa dobbiamo la produzione dell'infezione epatica, che si diffuse successivamente ad un tratto della capsula epatica e più tardi penetrò gradatamente nel cavo peritoneale, in cui rimase circoscritta per la produzione di membrane piogeniche limitanti il processo suppurativo. È questo probabilmente uno dei pochissimi casi, in cui è dimostrata in modo indubbio la produzione di una suppurazione epatica da ascaridiasi dei dotti biliari con propagazione del processo suppurativo alla cavità peritoneale.

L'O. suppone in base al reperto microscopico che in qualche canale biliare gli ascaridi siano morti, siano stati successivamente invasi da microrganismi e che da questi cadaveri di ascaridi per così dire decomposti abbia avuto punto di partenza l'infezione del parenchima epatico e del peritoneo. Basa questa sua supposizione sul fatto che gli ascaridi contenuti nell'interno dei canali biliari, da cui si irradiò all'ingiro il processo suppurativo erano gremiti di microrganismi non soltanto nella cavità del loro tubo digerente ma eziandio nello spessore dei loro tes-

suti. Quindi gli ascaridi agirebbero come causa di infezione epatica (intendendo con ciò il vero e proprio parenchima e non semplicemente le vie biliari) assumendo il carattere di corpi estranei contenenti germi infettivi, i quali si moltiplicano ed assumono intensa energia patogena, quando la morte del nematelminto ne determina una rapida ed abbondante moltiplicazione a spese dei propri tessuti.

Risulta confermata, dai fatti contenuti in questa osservazione clinico-anatomica, la grande forza di penetrazione degli ascaridi stessi, i quali erano pervenuti in numero di 2 o 3 in canali molto ristretti, ciò che del resto è già noto in base ai casi nei quali si osservò la presenza di tali elminti nei condotti lacrimali.

È importante il fatto, che nonostante la presenza abbondante di ascaridi in molte vie biliari, comprese le principali, i disturbi del deflusso biliare clinicamente constatati furono molto leggieri. Vi era ipobilinia fecale, e transitoria iperurobilinuria: mancanza di colorazione itterica della cute; assenza di veri pigmenti biliari nelle urine. Ciò dimostra che la bile continuava a fluire in una certa proporzione; che un'assoluta ostruzione delle vie biliari non ebbe mai luogo, in dipendenza della lentezza con cui penetrarono gli ascaridi e dell'adattamento che potè subire il lume delle vie biliari stesse all'ospite insolito. Avrà fors'anco influito sulla mancanza dell'itterizia, sia pure in grado limitato, l'esistenza di una scarsa bilirubinogenesi legata alle condizioni discrasiche e cachettiche.

Un altro fatto importantissimo e raro è rappresentato dalla tricocefaliasi straordinaria; nel laboratorio della clinica si numerarono 500 parassiti; ma la cifra complessiva era certamente superiore. La tricocefaliasi come l'ascaridiasi erano certamente attribuibili alla geofagia; alla prima si doveva ascrivere la grave forma di enterocolite ulcerativa. Notisi che una forma così notevole di elimintiasi non fu mai accompagnata da manifestazioni nervose imponenti.

L'O. richiama da ultimo l'attenzione dei soci sull'andamento speciale che ebbero l'acetonuria e la diaceturia nel periodo in cui la bambina fu in clinica. Esse furono intensissime in una prima fase: poi diminuì e scomparve la diaceturia, e da ultimo diminuì e scomparve l'acetonuria con rapida caduta. L'O. pensa che la scomparsa di tali sostanze dall'urina sia dovuta alla scomparsa delle sostanze produttrici. Nel nostro caso non si può pensare ad un'origine alimentare, perchè la bambina non prese che latte e continuò a berne fino agli ultimi istanti di vita. L'origine era indubbiamente da ricercarsi fuori dell'intestino, cioè nei tessuti, ed allora perchè la sua scomparsa avvenuta qualche giorno prima della morte? Non è logico pensare ad un'origine dal tessuto muscolare, perchè sebbene atrofico, il tessuto muscolare del cadavere era pur sempre rappresentato. L'O. crede più razionale pensare che l'acetonuria e le sostanze affini, nel caso in questione, derivassero

dal tessuto adiposo, che realmente era assolutamente scomparso nella bambina e che probabilmente si consumò sino all'ultima traccia durante gli ultimi giorni di vita.

Dopo il completo consumo del tessuto adiposo, sostanza madre probabile dell'acetone nel caso in questione, era naturale che questo corpo scomparisse dalle urine. Non si può escludere il glicogene, sebbene il volume considerevole del fegato, e quanto si conosce circa alla tenacia, con cui questa funzione si mantiene nel fegato anche gravemente alterato, rendano altamente inverosimile tale origine.

Un ultimo fatto d'importanza clinica. La nostra bambina affetta da varî processi piogeni (infezione biliare, suppurazione epatica, ascesso peritoneale, broncopolmonite estesa, enterocolite ulcerativa) febbricitò sino al giorno 11, 8 giorni prima della morte, e poi la febbre cessò, anzi si ebbe una febbre negativa, un decorso ipotermico della temperatura, con gradi rettali oscillanti tra 35° e 36° C. Questo contegno paradosso della temperatura coincise colla scomparsa dell'acetonuria. Vien fatto di pensare che la bambina abbia perduto la possibilità di reagire ai vari processi infettivi per la mancanza di sostanze capaci di attivare con la loro combustione la termogenesi febbrile: e come la loro mancanza si appalesa nelle urine con la scomparsa dell'acetonuria, essa si appaleserebbe nella reazione generale dell'organismo con la brusca scomparsa della febbre.

Certamente nel nostro caso non si devono perdere di mira le condizioni del sistema nervoso e dei rispettivi centri termogenetici esauriti dalla lunga e gravissima malattia; ma non credo privo d'interesse mettere in rilievo la contemporanea scomparsa della febbre e dell'acetonuria in un soggetto giunto al grado massimo di cachessia, ad un consumo completo del tessuto adiposo.

**Banti** domanda quale era il numero delle cellule eosinofile nel sangue. Inoltre rileva dalla comunicazione del prof. Mya che l'acetone che era abbondante nelle orine nei primi giorni, scomparve poi ad un tratto. Per accettare l'ipotesi del prof. Mya che l'acetone derivi dalla trasformazione delle sostanze grasse, si avrebbe dovuto osservare una diminuzione graduale di questo acetone, in rapporto col progressivo dimagramento.

**Silvestrini** domanda se fu fatta la ricerca quantitativa della bilina fecale e se si tenne conto del bilinogeno.

**Mya** risponde al prof. Banti che le cellule eosinofile erano scarse. Fa notare che vi fu una certa gradazione nella scomparsa dell'acetone nell'orina, in quanto che si ebbe prima la scomparsa dell'acido diacetico, e poi dell'acetone. Non furono fatte analisi quantitative esatte poichè era impossibile raccogliere la quantità totale delle orine della bambina, che le perdeva in massima parte nel letto.

Al dott. Silvestrini risponde che la bilina fu dosata col metodo ap-

prossimativo dello Zoia e che fu tenuto conto anche del bilinogeno. Esisteva ipobilinia fecale.

**Prof. Gino Galeotti.** — *Su di un microrganismo isolato dal Murex br.* (Questo lavoro venne pubblicato nello *Sperimentale*, fasc. 1, 1902).

*Il Segretario degli Atti*
C. Comba.

---

## Adunanza pubblica del dì 4 Febbraio 1902.

Presiede il Prof. G. FANO, *Presidente.*

Sono presenti i Soci: Baduel, Bottazzi, Banti, Banchi, Caccia, Capei M., Comba, Fairman, Flora, Guaita, Lustig, Livini, Lugaro, Mya, Pereyra, Pieraccini, Radaeli, Silvestrini, Toti.

**C. Baduel.** — *Distacco di retina, mestruale, recidivante, sintomatico di edema retroretinico vasomotorio, con esito in guarigione.*

Riferisce l'osservazione di una ragazza clorotica ed isterica che per cinque volte presentò un classico *distacco di retina* nello stesso occhio e nello stesso punto, sempre durante l'epoca mestruale ed in coincidenza col peggioramento delle condizioni generali, preceduto ed accompagnato da turbe del sistema nervoso, distacco che presentò sintomi funzionali ed oftalmoscopici caratteristici. Si formava rapidamente, durava pochi giorni, scompariva nel mentre si ripristinava completa la funzione visiva. Ebbe esito finale in guarigione assoluta che si mantiene inalterata da dieci anni.

L'O. esclude che possa trattarsi di una delle comuni forme di distacco e l'interpetra come un caso singolare e raro, in cui, dato il terreno isterico, la clorosi in atto e un occhio miope, nell'epoca mestruale, in un momento cioè favorevole alle turbe nervose, si sia potuto determinare, come fenomeno vasomotorio, un'edema retroretinico localizzato capace di scollare in quel punto la retina dando una forma classica di distacco.

Oltre l'importanza clinica per la strana localizzazione dell'edema, l'O. fa rilevare come il suo caso si presti a dimostrare luminosamente come la retina distaccata possa conservare per giorni e giorni la sua capacità funzionale e riassumere poi, senza l'intervento di un processo infiammatorio adesivo, i suoi rapporti coll'epitelio pigmentale, tornando

rapidamente a funzionare in tutta la sua estensione e con tutta l'intensità di prima, e ciò non una, ma varie volte consecutivamente.

L'O. nota infine l'analogia del suo caso con quello comunicato dal *Parisotti* all'Accademia medica di Roma nel 1900.

**Guaita.** Ha sentito con molto interesse la comunicazione del caso osservato dal dott. *Baduel*, che è più unico che raro nella letteratura medica, e domanda se fu saggiata la tensione oculare.

**Baduel.** La tensione oculare era diminuita nei periodi del distacco della retina.

**Guaita.** È d'accordo col dott. *Baduel* nella interpretazione patogenetica del caso. Però in base ai sintomi riferiti si potrebbe ammettere che la malata avesse avuto degli accessi di scotoma scintillante seguiti da edema retroretinico. Questo confermerebbe l'ipotesi che tale edema fosse dovuto a disturbi vasomotori, poichè appunto oggi si ammette che lo scotoma scintillante sia un effetto di disturbi vasomotori.

**Banti.** Domanda se piuttosto che un edema retroretinico, il quale distaccando la retina produrrebbe lesioni di tessuti difficilmente riparabili, non si potrebbe ammettere che nel caso descritto dal dott. *Baduel* ci sia stato un edema retinico circoscritto che non abbia prodotto lacerazione di tessuti, e si sia poi riassorbito senza lasciare alcuna alterazione anatomica e funzionale.

**Bardelli.** Ricorda che dall'*Ivanoff* fu descritto un edema circoscritto della retina suscettibile di una guarigione completa. Domanda al dott. *Baduel* se nei periodi di distacco della retina fu tenuto conto dello stato dei vasi della retina.

**Guaita.** Crede che un distacco di retina ci sia stato, poichè il dott. *Baduel* disse che coll'esame oftalmoscopico si vedevano chiaramente i vasi sulla retina staccata.

**Baduel.** Enumera i sintomi in base ai quali con matematica certezza si deve ammettere il distacco della retina nel caso da lui descritto, e come quindi non si possa pensare al semplice edema della retina. Riguardo ai vasi del fondo dell'occhio egli non osservò in essi alcuna alterazione apprezzabile.

*Il Segretario degli Atti*
C. Comba.

## Adunanza pubblica del dì 25 Febbraio 1902.

Presiede il Prof. G. FANO, *Presidente.*

Sono presenti i Soci: Azzurrini, Baduel, Banti, Bottazzi, Bardelli, Bessone, Comba, Chiarugi, Capei M., Caccia, Fairman, Lustig, Ligorio, Levi, Luisada, Livini, Mya, Marcacci, Orlandini, Orefici, Picchi, Radaeli.

**Prof. G. Fano.** — *Ricerche del dott. Persano intorno all' azione del peptone sul sangue.*

1) Cenno alla ormai nota azione anticoagulante del peptone sul sangue di cane.

2) Relazione delle esperienze fatte del dott. *Persano* sull'azione del peptone sul sangue della cavia e del rospo.

*Esperienze sulle cavie.* — Il peptone iniettato nella giugulare d'una cavia nella dose di gr. 0,60 per kg. di animale, lo uccide, in dose minore non lo uccide, ma non esercita alcuna azione anticoagulante: del pari inattivo è il siero di sangue peptonizzato, per es. di cane.

Questa inattività del peptone si manifesta tanto se l' animale è a digiuno quanto se è in periodo digestivo.

La cavia è dunque refrattaria all' azione anticoagulante del peptone.

*Esperienze fatte sul rospo.* — Nel rospo l' azione anticoagulante del peptone appare manifesta se il peptone viene iniettato nella dose di gr. 0,40-0,50 per kg. di animale.

Il peptone è attivo tanto *in vivo* che *in vitro*, e quasi nelle stesse dosi. Una prima iniezione di peptone non immunizza contro una seconda, qualunque distanza intercorra fra le due. L' azione del peptone non è affatto legata, come nel cane, alla funzione epatica; infatti la soppressione di questa non influisce sull' azione del peptone stesso.

Il plasma di sangue peptonizzato ha la stessa azione anticoagulante della soluzione di peptone.

Il sangue di rospo reso incoagulabile per mezzo di una iniezione di peptone non coagula con nessuno dei comuni mezzi che rendono la coagulabilità al sangue di cane posto nelle stesse condizioni; coagula solamente con l' aggiunta d' una uguale quantità di acqua distillata.

Il peptone ha un'azione distruttrice sui globuli rossi. Nelle iniezioni endocardiche il peptone esercita una azione inibitoria sulla funzione del miocardio: il cuore cessa di battere, e le pulsazioni non ricominciano che dopo un intervallo variabile fra 5 e 30 minuti. Questo arresto non

è dovuto ad un'azione riflessa dei nervi vaghi, perchè si verifica anche dopo il taglio di essi.

Probabilmente si tratta di un avvelenamento delle fibre del miocardio, che resta perciò momentaneamente paralizzato.

**Banchi dott. Arturo.** — *Presentazione di un « tropidonotus » scerebellato.* (Non fu consegnato il manoscritto).

*Il Segretario degli Atti*
C. COMBA.

---

**Adunanza pubblica del dì 18 Marzo 1902.**

Presiede il Prof. G. FANO, *Presidente.*

Sono presenti i Soci: BUFALINI, BANTI, BADUEL, BOTTAZZI, CHIARUGI, COMBA, COLZI, CACCIA, CORSINI, ECCHER, FLORA, FILIPPI, LIVINI, LEVI, LIGORIO, MARCACCI, OREFICI, TOTI.

**Fil. Bottazzi.** — *L'innervazione viscerale nei Crostacei e negli Elasmobranchi.*

Nei vertebrati superiori distinguiamo un sistema nervoso centrale, un sistema gangliare plessiforme intraviscerale, cioè periferico nelle pareti dei visceri, e un sistema nervoso simpatico intermedio fra i due primi. Quest'ultimo, derivato dal sistema centrale, è destinato alla innervazione dei visceri.

In una precedente pubblicazione (*Ricerche fisiologiche sul sistema nervoso viscerale delle Aplisie e di alcuni Cefalopodi*, « Riv. di scienze biol. », vol. I, 1899), io dimostrai che nei Gasteropodi marini e nei Cefalopodi un vero sistema simpatico non esiste, mentre in tutti gli animali si ammette l'esistenza di un sistema gangliare plessiforme intraviscerale, e che l'innervazione dei visceri è fatta da fibre nervose partenti dal sistema gangliare centrale, il quale innerva anche la muscolatura del corpo. Si vede bensì qualche ganglio distinto dagli altri servire in modo specifico alla innervazione di uno o più visceri (g. stomato-gastrici e g. viscerale delle Aplisie, g. cardiaco dei Cefalopodi, ecc.), ma non si può mai, nè morfologicamente nè fisiologicamente, parlare, in questi animali di sistema simpatico nel senso in cui ne parliamo nei vertebrati superiori.

Le mie recenti ricerche sui Crostacei decapodi (*Maja Squinado, Palinurus vulgaris*) hanno dato analoghi risultati. Nel *Palinurus*, la dispo-

sizione a catena dei gangli, così detti ventrali, avrebbe fatto supporre la possibilità dell'esistenza di una catena di gangli simpatici differenziati dai primi. Invece questi non esistono. L'esofago e lo stomaco sono innervati dai gangli sopraesofagei, innervanti anche le antenne, le antennule e gli organi fotorecettori. Il cuore è sotto il dominio di due centri situati nella massa gangliare toracica: uno anteriore e inibitore, l'altro posteriore e acceleratore. Gli Autori non descrivono, in verità, nervi cardiaci; ma io credo che le fibre in questione dal ganglio ascendano al cuore, situate dorsalmente, lungo l'arteria sternale. Certo è che la distruzione di questa fa sparire ogni influenza della stimolazione dei gangli sui movimenti cardiaci. Il segmento terminale dell'intestino è innervato dalla parte caudale del ganglio toracico nella *Maja*, dall'ultimo ganglio della catena ventrale nel *Palinurus*. Tanto la stimolazione del nervo esofageo-gastrico, quanto la stimolazione del nervo intestinale provocano, nel segmento anteriore e risp. posteriore del tubo digerente, movimenti ritmici che durano oltre la stimolazione.

Qualche cosa di più affine al simpatico dei vertebrati superiori apparisce nei Ciclostomi (giacchè non si sa ancora nulla in proposito riguardante l'*Anphioxus*), e si perfeziona sempre più negli Elasmobranchi, nei Ganoidi e nei Teleostei. Ma le mie ricerche sono state fatte esclusivamente sugli Elasmobranchi, anzi più specialmente sugli Squalidi, e poche soltanto sui Rajidi.

Negli Squalidi esistono gangli simpatici segmentali, fusi (anteriormente) coi corpi surrenali; ma solamente sul primo ganglio gli esperimenti fisiologici sono possibili.

In questi animali, l'innervazione viscerale è fatta dal vago e dal simpatico. La stimolazione del vago provoca arresto del cuore, e contrazioni gagliarde dei muscoli branchiali e dell'esofago, il quale ultimo, se bene sia fornito di muscolatura striata prevalentemente circolare, presenta nelle sue contrazioni caratteri intermedî fra quelli della muscolatura liscia e quelli della rimanente muscolatura striata del corpo. Il vago provoca anche moti ritmici regolari nello stomaco prima immobile, moti iniziantisi quasi sempre alla regione pilorica ove appariscono anche più gagliardi. L'influenza del vago sul duodeno e sull'intestino spirale apparisce soltanto in condizioni eccezionali di eccitabilità, *optimum* della muscolatura del tubo digerente.

La stimolazione del primo grande ganglio simpatico, o delle fibre prevalentemente mieliniche che ne partono, e che unite in due o tre fascetti costituiscono i così detti splancnici (Chevrel), provoca movimenti ritmici vivaci nello stomaco, specialmente nella regione pilorica, nel duodeno e raramente nella metà prossimale dell'intestino spirale. Iniettata nicotina nel sangue dell'animale, e poi stimolato il ganglio o i rami pregangliari (questa stimolazione non può farsi senza dissanguamento dell'animale, perchè i gangli simpatici sono contenuti *entro la cavità delle*

*vene cardinali)*; ovvero pennellato il ganglio con soluzione di nicotina, e poi stimolati i rami pregangliari, quasi sempre ho veduto movimenti del tubo digerente, se bene apparissero meno vivaci.

Dell'azione degli altri gangli non si può giudicare altrimenti, se non stimolando i varî tratti del midollo spinale messo a nudo, o meglio delle sue radici ventrali. In tal guisa ho potuto distinguere un centro motore del retto e della cloaca, un centro innervante le appendici copulatorie o pterigopodi (Petri) dei maschi e la vulva delle femmine, non che varî tratti, la stimolazione dei quali produce deboli movimenti del deferente o dell'ovidutto, e del condotto coledoco.

Dall'insieme dei fatti osservati, mi sono convinto che negli Elasmobranchi il così detto sistema gangliare simpatico, se bene derivi, come nei vertebrati superiori, dal s. centrale, presenta ancora una duplice relativa indipendenza: in sè stesso, in quanto che non sempre e non tutti i gangli sono riuniti fra loro a catena da tratti connettivi longitudinali: e dal m. spinale, in quanto che, a giudicare dal primo ganglio, che è anche di gran lunga il più cospicuo e che risulta, secondo gli Autori, dalla coalescenza di più gangli minori, non apparisce alcuna corrispondenza fra le poche fibre che a questo ganglio arrivano e le molte che, per i così detti splancnici, ne partono per recarsi ai visceri. S'aggiunga che le variazioni anatomiche e fisiologiche nel campo del simpatico dei Selacei sono frequentissime.

**Basti.** Il Dott. Bottazzi ha detto che tagliando l'arteria sternale nei Crostacei l'eccitazione del ganglio ventrale non è trasmessa al cuore. Ora egli domanda se ciò non si può spiegare coll'alterata nutrizione di questo ganglio per la mancanza della circolazione.

**Bottazzi.** Crede che difficilmente si possa ammettere questa interpretazione, perchè i gangli nervosi degli animali inferiori sono molto resistenti e possono funzionare per un tempo non indifferente anche quando è soppressa la circolazione.

**Fano.** A conferma di quanto disse il Bottazzi fa notare che anche nei vertebrati inferiori, come l'*Emys europaea*, si possono osservare per varie ore delle funzioni nervose assai complesse, come la deambulazione, anche quando è soppressa la circolazione sanguigna nei centri nervosi.

**Flora e Brunazzi.** — *Alcune ricerche di fisiologia e patologia muscolari.*

1° Registrarono il numero delle vibrazioni prodotte dai muscoli volontari di soggetti normali, trovando con grande costanza che questo variano da 12 a 13 al secondo, durante una contrazione tonica. In nessun soggetto patologico il numero ha superato la media fisiologica. In soggetti molto deboli (specie nei convalescenti) il numero delle vibrazioni scende sensibilmente, e così ai malati che presentano tremori di varia natura; in particolare nella *paralisis agitans*, nella quale le vibrazioni scendono anche a 6 al secondo. Queste vibrazioni sono in rapporto

col numero degli stimoli che partono dai centri nervosi, ed il loro rilievo può avere una certa importanza semiologica, quando sia esteso ad un gran numero di persone, essendosi per ora interessati specialmente della parte fisiologica. Le ricerche saranno continuate.

2° In un'altra serie di esperimenti hanno cercato di determinare il numero preciso di stimoli elettrici necessari per provocare il tetano nei muscoli umani, sempre allo scopo di trarne qualche dato applicabile alla semiologia dell'apparato nerveo-muscolare.

Con tracciati chimiografici dimostrano che esiste una profonda differenza fra i muscoli aventi funzioni diverse. I muscoli degli arti inferiori per entrare in contrazione tetanica esigono un numero minore di stimolazioni faradiche di apertura, 12,5 in media al secondo in confronto coi muscoli della mano per i quali ne occorrono 20,4 al secondo, mentre il massetere dà una contrazione tonica con 35 e l'orbicolare con 37.

Ciò è in rapporto colla durata della contrazione; sotto lo stimolo elettrico le determinazioni fatte da F. e B. mediante tracciati, fissano per il periodo dell'ascesa della contrazione, essendo il muscolo in condizioni isotoniche, una durata di 3-4 centesimi di secondo, per il massetere $^{6}/_{100}$, e per quelli della gamba $^{8}/_{100}$ di secondo. Minore è la durata della contrazione, maggiore è il numero di stimoli necessari per provocare il tetano. Le cifre riportate per la durata della contrazione si riferiscono a contrazioni ottenute con stimolazioni di media intensità, quali erano usate per provocare il tetano.

In pratica dovendo eseguire numerose determinazioni si limitarono a constatare il numero necessario per provocare il tetano, palpando il muscolo mentre veniva eccitato con stimolazioni ognor più rapide fino alla scomparsa della vibrazione muscolare.

Dalle prove fatte su vari soggetti sembra, per ora, che gli esauriti per gravi malattie, diano il tetano elettrico con un numero di stimoli minore; così pure i giovani, e, per i muscoli della mano, coloro che sono abituati a lavori grossolani.

Il tetano si ha pure con un minor numero di eccitazioni là dove la contrazione è più lenta per fatti degenerativi (nevriti), così pure nella paralisi agitante.

Un aumento del numero di stimoli necessari a provocare il tetano faradico fu constatato nei nevrosici (isterici, istero-nevrastenici).

Domandano schiarimenti e fanno alcune osservazioni i soci **Bottazzi**, **Fano**, **Luisada**, ai quali risponde il socio dott. **Flora**.

*Il Segretario degli Atti*
C. Comba.

## Adunanza pubblica del dì 22 Aprile 1902.

Presiede il Prof. E. PESTALOZZA, *Vice-Presidente.*

Sono presenti i Soci: Azzurrini, Banchi, Banti, Baduel, Bottazzi, Bessone, Capei M., Comba, Caccia, Flora, Livini, Levi, Orlandini, Picchi, Pieraccini, Pacchioni, Radaeli, Stori.

**Dott. G. Pieraccini.** — *Granulazioni iodofile ed eosinofile.*

In una recente pubblicazione « sulle granulazioni iodofile ed eosinofile nei leucociti », il dott. U. Biffi concludeva col dire che « le granulazioni iodofile intra ed extracellulari dei leucociti corrispondono perfettamente, nella maggior parte dei casi e forse in tutti, alle granulazioni eosinofile o a quelle pseudoeosinofile ».

L'O. nega che l'affermazione del Biffi risponda alla verità dei fatti. L'affermazione del Biffi trae sua principale ragione di essere da una erronea osservazione, e precisamente non è esatto che l'iodio colorisca ugualmente le granulazioni eosinofile e le iodofile. Se si espone all'azione dell'iodio un vetrino su cui si sia previamente disteso del sangue, è verissimo che anche le granulazioni eosinofile assumono una tinta gialletta (come del resto tutto quanto il preparato), ma questa colorazione giallognola delle granulazioni eosinofile va distinta dalla colorazione rosso-mogano che è caratteristica delle granulazioni iodofile. La differenza fra granulazioni e granulazioni sta tutta nella tonalità del colore, ma questa è così netta che non permette la identificazione delle due varietà di granuli, come ha affermato il Biffi.

L'O. prese un sangue ricco di oltre il 50 % di eosinofili (sul totale dei leucociti) e non ebbe iodofilia; anzi contò solo circa il 4-6 % di leucociti iodofili, e ciascun leucocita conteneva non più di 1-3, rarissimamente 4 granuli. All'opposto servendosi di siero raccolto da una vescica determinata dall'applicazione di un vessicatorio cantaridato sulla cute (metodo che all'O. — che per il primo lo ha applicato — rivelò una grande produzione di cellule iodofile), mentre non riscontrò che il 5-10 % di cellule eosinofile, osservò una straordinaria iodofilia, quasi ogni cellula presentandosi ricca di granulazioni iodofile. Alcune cellule anzi si mostrarono addirittura stipate di granulazioni iodofile.

**Pacchioni.** Si associa al dott. Pieraccini per la critica fatta ai lavori dei dottori Biffi e Galli, e ritiene egli pure che questi AA. probabilmente non abbiano bene distinto le granulazioni iodofile da quelle eosinofile.

**Flora.** Domanda se il dott. Pieraccini seguì nelle sue ricerche di controllo la stessa tecnica adottata dal Biffi e dal Galli.

**Pieraccini.** Seguì la tecnica indicata dal Galli.

**Tiberti N.** — *Sulle minute alterazioni del pancreas consecutive alla legatura del condotto di Wirsung.*

Le alterazioni morfologiche del pancreas, consecutive alla legatura del condotto di *Wirsung*, furono studiate da Pawlow, Arnozan e Vaillard, Mouret, Vassale, ecc. e in ogni caso fu riscontrata atrofia degli acini pancreatici, dilatazione dei condotti escretori e iperplasia connettivale. Nessuno però di questi AA. studiò in modo particolare le alterazioni secretive delle cellule pancreatiche in seguito alla legatura del condotto escretore, cosa che io mi sono proposto di fare colle mie ricerche, convinto della importanza dei fenomeni secretori negli elementi cellulari in genere, in quelli glandolari in ispecie.

Premetto che io mi sono occupato esclusivamente di ciò che accade nel tessuto zimogenico della glandola, lasciando da parte la questione ancora tanto controversa delle isole di Langerhans. Il modo di comportarsi di queste verso la legatura del condotto di Wirsung potrebbe costituire argomento di studio a sè, il che è stato già fatto da Ssobolew e Mankowski, i quali però non hanno avuto identici risultati.

È noto come i fatti secretori nelle cellule ghiandolari si manifestano colla presenza di granulazioni nell'interno del protoplasma e del nucleo, granulazioni alle quali si dà generalmente il significato di secreto, quantunque vi sia grande disparità di opinioni fra gli AA. per ciò che riguarda la loro genesi e il meccanismo di loro formazione.

È di questi granuli che io mi sono specialmente occupato nelle mie ricerche e per lo studio di essi mi son servito del metodo Galeotti, che su tutti gli altri ha il vantaggio di tingere anche le granulazioni più piccole, nei primi stadi della loro formazione, e di essere inoltre rapidissimo.

Fissati i frammenti di pancreas nel liquido di Flemming o Hermann si tingono le sezioni, previamente attaccate al coprioggetti, con soluzione satura di fucsina in acqua di anilina: si trattano quindi con soluzione satura idroalcoolica di acido pirico, si lavano, si colorano con verde di metile al $^1/_2$ $^0/_0$, si disidratano in alcool assoluto, si rischiarano in xilolo e si montano in balsamo.

Il citoplasma si tinge in verde, le granulazioni in rosso.

Gli animali sui quali esperimentai furono i conigli, in cui il condotto di Wirsung è molto evidente e si lega molto più facilmente che nel cane.

Tutti i conigli da me operati sopportarono benissimo l'operazione: giammai si verificò in essi diminuzione di peso e in nessuno si riscontrò glucosio nelle urine.

Uccisi i conigli a diversa distanza di tempo da 24 ore a due mesi e mezzo, ed ecco brevemente quali furono i risultati delle mie ricerche:

Nei primi giorni dopo la legatura si ha la presenza di granuli numerosi e di volume variabile nell'interno degli elementi cellulari, alcuni dei quali ne sono letteralmente gremiti.

In alcune cellule i granuli sono così numerosi da coprire anche il nucleo. Gli elementi cellulari si presentano rigonfi, idropici per ristagno del secreto liquido.

Ben presto si verifica ectasia degli acini ghiandolari e dei condotti escretori. Le cellule pancreatiche perdono la loro struttura caratteristica normale e diventano appiattite. I granuli si riducono grandemente di numero e sono meno voluminosi.

Contemporaneamente si ha infiltrazione del connettivo che circonda gli acini e i condotti escretori.

Più tardi la maggior parte delle cellule si atrofizzano: i granuli finiscono collo sparire del tutto. Accanto però a queste cellule atrofiche si vedono qua e là, sempre nell'interno degli acini, delle cellule grandi, con protoplasma omogeneo e nucleo ricco di sostanza cromatica, cellule, che con una espressione introdotta di recente in citologia, vengono dette cellule *sdifferenziate.*

Questi elementi cellulari, come è noto, hanno una grande importanza nei processi di rigenerazione.

Nelle sezioni osserviamo inoltre delle figure cariocinetiche tanto nelle cellule degli acini, quanto in quelle dei dotti escretori e nelle cellule fisse del connettivo.

Un mese dopo la legatura del condotto di Wirsung gli acini sono atrofici, i dotti dilatati, il connettivo iperplastico. Non si osserva nessun acino con cellule contenenti granuli, sia pure in scarso numero. Qua e là si vedono dei nidi di cellule alquanto irregolarmente disposte: in qualcuno di questi nidi si scorge come un piccolo lume: anche in queste cellule non esistono granuli.

Nelle sezioni di pancreas dopo due mesi e mezzo dalla legatura del condotto di Wirsung è notevole il fatto che, accanto ad acini atrofici, a dotti dilatati, in mezzo al connettivo iperplastico, si notano degli acini costituiti da cellule piramidali, nel cui citoplasma sono contenuti numerosi granuli.

Quale il significato di questi acini?

L'aver ritrovato nelle sezioni di pancreas, a diverso periodo dalla legatura del condotto di Wirsung, cellule differenziate e figure cariocinetiche, fa pensare che questi acini possano venire interpretati come acini rigenerati. Quale altra interpretazione infatti potrebbe darsi loro?

Mal si comprenderebbe come in un pancreas, il cui condotto escretore fu legato per due mesi e mezzo, vi potesse essere un numero considerevole di acini sfuggiti alle alterazioni consecutive alla legatura,

in prossimità di altri acini fortemente alterati, in mezzo ad uno sviluppo così abbondante di connettivo. Se ciò fosse, noi avremmo dovuto riscontrare la presenza di questi acini nelle sezioni di pancreas il cui dotto fu tenuto legato per un tempo minore, non solo, ma avremmo dovuti ritrovarli in numero maggiore.

Invece in nessuno dei pancreas da me esaminati, neppure in quelli il cui dotto è stato legato per pochi giorni, mi accadde di riscontrare acini ben conservati, con granuli di secrezione nell'interno delle loro cellule, come nel pancreas a due mesi e mezzo dalla legatura.

Nel caso nostro sarebbe accaduto quello che accade nel fegato in seguito a processi cirrotici, cui talvolta seguono fatti rigenerativi, che non decorrono con tanta chiarezza, come allorquando si producono sperimentalmente estirpazioni parziali del parenchima epatico. La proliferazione delle cellule epatiche in questi casi, oltrechè per processi di cariocinesi, si verifica per processi amitotici.

Fatti rigenerativi furono descritti, oltrechè per il fegato, per i reni, per la tiroide, per i polmoni, per i testicoli, per le ovaje, per la mucosa stomacale ed intestinale, per la mucosa uterina.

*Fuckel* studiò la rigenerazione di interi lobuli di glandole salivari.

Egli però non potè dimostrare se i lobuli neoformati fossero capaci di secernere.

Parmi quindi logico ammettere che fatti rigenerativi si possono, anzi si debbono verificare anche nel pancreas in seguito ad un processo cirrotico, quale è quello che noi provochiamo mediante la legatura del condotto escretore (presenta alcuni preparati microscopici).

**Dott. G. Levi.** — *Dimostrazione ed illustrazione di preparati microscopici di capillari biliari.*

È a tutti noto quale valore morfologico sia stato dato, per le ricerche di Hering, Eberth, Retzius, Kölliker, ecc. ai capillari biliari; essi rappresentano sottili canalicoli ghiandolari, nei quali il rivestimento è dato dalle faccie delle cellule epatiche; e la loro sottigliezza in confronto al lume di altre ghiandole tubulari, dipende dalla circostanza che le pareti cellulari che li delimitano sono molto circoscritte.

Però, mentre su questo punto, che cioè i capillari biliari non hanno altra parete cellulare all'infuori delle cellule epatiche, tutti gli osservatori si trovarono d'accordo, fu molto discusso se a delimitare i capillari biliari esista o no una cuticola formatasi per differenziazione delle cellule epatiche; Kölliker ed Eberth ritennero che questa cuticola dovesse considerarsi come una membrana cellulare modificata. Ricerche più recenti di Geberg e R. Krause diedero la dimostrazione di quanto Kölliker aveva ammesso in via ipotetica molti anni prima.

Il Relatore nell'eseguire dei preparati a scopo di dimostrazione, potè confermare colla massima evidenza questo risultato di Krause, e

presenta i preparati suddetti soltanto collo scopo di rendere noto un mezzo semplice e sicuro per dimostrare la parete dei capillari biliari, il quale può rendere notevoli servigî in ricerche isto-patologiche. Il metodo consistente nella ben nota colorazione all'ematossilina ferrica di Heidenhain (previa fissazione in sublimato picrico). Con essa la parete dei capillari si presenta colorita intensamente in nero, mentre il citoplasma della cellula epatica appare più chiaro; la parete suddetta si può seguire per tratti relativamente lunghi (eseguendo sezioni alquanto spesse). Riesce facile il convincersi per l'intima connessione sussistente fra quella ed il citoplasma della cellula epatica, che la parete del capillare non è che uno strato citoplasmatico differenziatosi dalla cellula epatica, come aveva supposto Kölliker; la sua differente reazione di fronte alle sostanze coloranti dipende probabilmente dalla sua maggior densità.

**Dott. T. Steri.** — *Sopra due casi di lussazione traumatica anteriore del ginocchio.*

La varietà anteriore di lussazione traumatica del ginocchio, ossia lo spostamento della tibia in avanti dell'estremità inferiore del femore, è rara. Nella Clinica Chirurgica di Firenze ne sono capitati due casi, dei quali uno con la rarissima complicanza della gangrena consecutiva del piede e della gamba, ed è di un certo interesse il riferirli.

Billi Silvio d'anni 38 facchino, di Firenze, è stato portato nella Clinica la sera del 20 gennaio 1902. Egli tirando a mano un baroccino carico di stoffe per 5 o 6 quintali, scivolò e cadde sul lato destro, rimanendo colla parte anteriore della coscia di contro alla stanga. Nello stesso momento parte della merce precipitò in avanti battendo sulla parte posteriore della gamba destra, mentre questa era in estensione.

Il Billi provò un violentissimo dolore al ginocchio destro e senso di strappamento, non potè più rialzarsi e fu portato all'Ospedale ed esaminato circa 3 ore dopo l'accaduto.

Il malato non aveva sofferto in precedenza di nessuna affezione qualsiasi articolare.

All'esame diretto si notava che la gamba era estesa sulla coscia ed il ginocchio destro assai deformato. Il suo diametro anteroposteriore era circa il doppio del normale; alla parte anteriore del ginocchio si presentava una marcata salienza, che si riconosceva facilmente alla palpazione per la estremità superiore della tibia spostata in avanti.

Il piattello tibiale infatti si sentiva libero lateralmente, e nel centro vi si palpava adagiata e fissa la rotula che si continuava in alto col tendine del quadricipite. Ai lati di questo si vedevano marcate due fossette che si prolungavano superiormente colla superficie della coscia.

Il cavo popliteo era scomparso ed occupato da due salienze coi caratteri dei condili femorali.

Non era permesso nessun movimento: l'arto destro era di cinque centimetri più corto del sinistro.

Il polso della pedidia e della tibiale posteriore non si sentiva più, solo si avvertiva sopra i condili femorali il battito della poplitea.

La pelle era leggermente cianotica e fredda.

La sensibilità era abolita alla parte esterna della gamba, alla sua metà posteriore inferiore, al dorso del piede ed alle dita.

Con questi dati chiara risultava la diagnosi di lussazione anteriore traumatica del ginocchio.

La riduzione fatta senza narcosi, non ha presentato difficoltà.

Trazione sulla gamba fatta da un assistente e coattazione colle mani abbraccianti posteriormente il cavo popliteo sotto i condili del femore ed i pollici anteriormente sulla cresta anteriore del piattello tibiale Uno scatto brusco accompagnato da un rumore caratteristico e dalla scomparsa della deformità ha denotato la riduzione della lussazione.

È ritornato subito il polso alla pedidia ed alla tibiale posteriore. I dolori si sono mitigati e dopo circa tre ore la sensibilità era presso a poco normale.

L' arto è stato messo in una doccia del Bonnet, con ghiaccio sul ginocchio.

Nei primi giorni non c'è stato dolore, non gonfiore, non versamento nell' articolazione, non edema dell'arto, sensibilità normale.

La notte del 24 gennaio, il malato ha sentito dolore vivo alla gamba accompagnato da scosse e contrazioni convulse che si sono ripetute a breve intervallo per poco tempo.

*25 Gennaio.* — Al mattino la gamba era cianotica, specialmente nel suo terzo inferiore, era fredda ed un dolore sordo intenso era diffuso a tutto il piede e al terzo inferiore della gamba. Nel piede la sensibilità era abolita. Il polso della pedidia, tibiale posteriore e poplitea non si sentiva più.

Il sopravvenire improvviso di questi nuovi e gravi fenomeni non lasciava alcun dubbio su quanto disgraziatamente era venuto a turbare il decorso fino allora così benigno del caso nostro.

La maniera brusca di insorgere dei fenomeni descritti ed i caratteri di essi portavano ad ammettere la produzione di una embolia, oppure il trauma poteva avere determinate alterazioni tali dell'intima dell'arteria poplitea, per le quali si fosse adagio adagio formato un trombo che dapprima per essere parietale non aveva provocato disturbi apprezzabili e che poi per essersi fatto completo aveva determinata la subitanea insorgenza dei fatti accennati.

Si fecero impacchi caldi al sublimato per impedire infezioni gravi della gangrena che cominciava.

*31 gennaio.* — Principiarono edemi e soffusioni sanguigne estese alla parte posteriore della gamba e del poplite.

La dolorabilità era limitata al piede.

La sensibilità, benchè diminuita, pure era avvertita fino presso al collo del piede.

Il piede si manteneva freddo, cianotico. Impossibilità a muovere le dita.

*4 febbraio.* — La gangrena non si era ancora bene limitata, erano comparse delle flittene alla parte posteriore della gamba.

La temperatura è salita a 38° alla sera.

*7 febbraio.* — La gangrena si estendeva fino al terzo superiore della gamba.

La sensibilità assai diminuita.

Temperatura 39°.

*14 febbraio.* — Amputazione di coscia alla Gritti. — Drenaggio. — Medicatura sterilizzata.

Nei giorni successivi erano caduta la temperatura, scemati i dolori, le condizioni generali del malato migliorate.

*22 febbraio.* — Prima medicatura. Condizioni della ferita buone. — Si è rinnovato il drenaggio.

*28 febbraio.* — Seconda medicatura. — Guarigione completa.

*Esame anatomo-patologico.* — Le ossa al ginocchio erano nella posizione normale. Esistevano gravissime alterazioni in tutta l'articolazione e specialmente nella parte posteriore.

Il legamento rotulieno era intatto, i legamenti alari distesi e sfibrati. De' legamenti laterali l'interno conservava le sue inserzioni ma si presentava più allungato e rilasciato per piccole lacerazioni multiple. L'esterno era distaccato in corrispondenza della testa del perone ed un piccolo frammento di quest'osso era rimasto fissato al legamento.

La superfice posteriore della capsula era lacerata, da un condilo all'altro, nella sua porzione inferiore. Nell'interno dell'articolazione non esisteva raccolta.

I legamenti crociati erano entrambi strappati in corrispondenza della loro inserzione femorale.

Le cartilagini semilunari si mostrano scollate e rigonfie.

Sulla superfice interna della sinoviale ispessita trasparivano qua e là delle suffusioni sanguigne; qualcuna si notava anche sulle superfici cartilaginee articolari. Si vedevano inoltre delle leggere stratificazioni di fibrina.

Nei muscoli eravi grave infiltrazione sanguigna.

Anche in tutte le parti molli periarticolari si riscontrava una forte infiltrazione sanguigna tanto che riesciva poco manifesta la distinzione delle varie parti.

L'arteria poplitea si presentava completamente obliterata da un trombo che si continuava in basso fino oltre la sua biforcazione.

L'arteria tibiale anteriore era occlusa per 4-5 centimetri oltre la

sua origine. La posteriore invece era trombizzata per tutta la sua lunghezza.

Il piede e la metà inferiore della gamba erano in preda ad uno sfacelo completo.

L'esame microscopico ha dimostrato l'integrità delle tuniche muscolari ed elastica della poplitea. L'intima era alterata, vi si notavano fatti di endoarterite; in alcuni punti essa si confondeva col trombo in via di organizzazione, in altri non se ne riconosceva la struttura ed era come distrutta.

I nervi non erano scontinuati, ma solo infiltrati. — Scarsi i cilindrassi colorabili.

Il meccanismo con cui si è prodotta questa lussazione è quello descritto dal Malgaigne e dopo lui dal Deguise, ossia se una forza agisce sull'arto in estensione esagerando questo movimento, il femore funziona come una leva di secondo ordine nella quale la potenza sarebbe rappresentata il più spesso dal peso del corpo che agisce sull'estremità superiore del femore stesso, il punto d'appoggio dalla parte anteriore del piattello tibiale, la resistenza dai legamenti posteriori e laterali, il braccio corto della leva dall'estremità antero-posteriore dei condili del femore.

Nel caso nostro l'iperestensione non era dubbia, la parte anteriore e media del femore appoggiava sulla stanga del barroccino, il peso del corpo dell'individuo che cadeva spingeva l'estremità superiore del femore in avanti, la merce, che batteva sulla gamba estesa, esagerava oltre il grado tollerabile l'estensione del ginocchio e la lussazione si produceva completa.

Come si è notato sono rare queste lussazioni traumatiche, tanto che fino al principio del secolo passato erano state negate (Boyer). Fu il Velpeau che, approfondendo lo studio su quest'argomento, riunì tutte le osservazioni che erano state pubblicate fino al suo tempo e ammise questa varietà di lussazione. Egli non ritenne possibile le lussazioni del ginocchio incomplete in avanti.

Il Malgaigne dimostrò l'esistenza di queste lussazioni incomplete sia colle osservazioni, sia coll'esperimento. Questi fatti vennero poi confermati ed ampliati per quanto riguarda il reperto anatomo-patologico dal Deguise, dal Desormeau, dal Richet, dal Thomassin, Verollot, Lamblin, Triaund, Spillmann, Hamilton, Huruch, ecc.

In oggi possiamo contare 70 lussazioni in avanti fra complete ed incomplete.

Queste lussazioni si sono verificate negli adulti o nei vecchi; nei giovanetti si è avuto sempre un distacco epifisario.

— La riduzione di queste lussazioni in generale non ha presentato difficoltà. La guarigione è avvenuta in modo rapido e i malati hanno potuto camminare dopo una quindicina di giorni. La debolezza o la clau-

dicazione leggera che si è notata nei primi tempi è andata gradatamente scomparendo, di rado questa ha persistito.

Non sempre però si ha un andamento regolare. I casi complicati da rottura della pelle, mercè l'antisepsi, non sono più da temere. Piuttosto l'attenzione è attirata sopra una complicanza grave e fortunatamente assai rara, quale la rottura dell'arteria-poplitea.

In otto casi solamente è stata constatata e di questi due sono morti senza aver subìta l'amputazione, uno per setticemia sopraggiunta dopo l'accidente senza gangrena della gamba (Bollinghall), l'altro per complicanze non imputabili alla lussazione del ginocchio (Lamblin). Un terzo fu amputato immediatamente dopo il traumatismo (Stewart); altri quattro dopo che la gangrena della gamba era manifesta (Lamblin, Annandale, Adam ed il nostro).

Un caso del Piéchaud guarì; certamente la rottura doveva esser stata incompleta poichè non parla di spandimento sanguigno nel cavo popliteo.

Anche nel caso nostro non vi è stata rottura completa delle tuniche dell'arteria, ma smagliature dell'intima che hanno portato alla formazione d'un trombo occludente, con tutte le conseguenze.

L'amputazione osteoplastica alla Gritti, come aveva corrisposto in varî altri casi nella nostra Clinica per cause svariate, ha dato anche in questo un moncone bene costituito, solido, indolente, e l'operato potrà tollerare senza molestia l'apparecchio di protesi.

Accennerò soltanto ad un altro caso occorso pure nella Clinica nel 1891 e riportato nel contributo di clinica operativa del Prof. Colzi (1891).

Francioni Napoleone, di anni 21, di Firenze, è caduto da un terzo piano e si è prodotto le seguenti lesioni. Lussazione anteriore della tibia sinistra il di cui piattello articolare si trova 7 centimetri sopra i condili femorali, strappamento del legamento laterale esterno del ginocchio destro e frattura complicata e comminuta della parte media delle ossa dell'avambraccio destro.

Operato il 2 aprile 1891 sotto cloroformio, riduzione della lussazione. Estrazione e regolarizzazione dei frammenti de' focolai di frattura dell'avambraccio.

Medicatura sterilizzata ed immobilizzazione.

La funzionalità delle ginocchia dopo 25 giorni è tornata completa: vi è paralisi nel distretto del nervo safeno esterno, che riacquista lentamente la sua funzione con applicazioni elettriche.

La frattura si consolida in buona porzione, vi è un callo un po' esuberante.

*Il Segretario degli Atti*
C. Comba.

## Adunanza pubblica del dì 29 Aprile 1902.

Presiede il Prof. G. FANO, *Presidente.*

Sono presenti i Soci: Azzurrini, Banti, Bottazzi, Banchi, Colzi, Capei M., Caccia, Comba, Giarrè, Lustig, Livini, Levi, Pieraccini, Picchi, Radaeli.

**Dott. A. Banchi.** — *Presentazione di un « Bufo vulgaris » scerebellato.* (Non fu consegnato il manoscritto).

*Il Segretario degli Atti*
C. Comba.

## Adunanza pubblica del dì 6 Maggio 1902.

Presiede il Prof. G. FANO, *Presidente.*

Sono presenti i Soci: Azzurrini, Bottazzi, Banti, Bessone, Banchi, Chiarugi, Comba, Caccia, Colzi, Eccher, Giuntoli, Lustig, Livini, Levi, Marcacci, Pestalozza, Pieraccini, Picchi, Pacchioni, Radaeli, Stori, Toti.

**Dott. L. Picchi.** — *Un caso di Dermatomiosite.*

Non accade molto facilmente di vedere al tavolo anatomico un caso di dermatomiosite, di questa forma di infiammazione muscolare non suppurante, abbastanza ben caratterizzata in vita da dolori vivissimi sui muscoli alla pressione e nei movimenti volontari, da tumefazione dei medesimi e corrispondente edema cutaneo con assoluta integrità dei rami nervosi.

L'A. crede valga la pena riferire circa un caso di questa malattia osservato da lui alla necroscopia e studiato accuratamente dopo.

Premette che le notizie cliniche sia anamnestiche che di esame obiettivo e di decorso le ebbe dal collega dott. *Pieraccini*, al quale porge qui pubblicamente vivi ringraziamenti.

Venendo a parlare del caso, si trattava di un giovane, S., di 18 anni,

colono, di S. Casciano, che ammalatosi il 3 novembre 1899 per dolori agli arti inferiori e alle regioni lombari ritenuti di natura reumatica, ricoverò a S. M. Nuova il 24 del medesimo mese.

L'esame praticato al suo arrivo e la osservazione clinica continuata durante la sua degenza misero in evidenza i seguenti fatti:

Dolori ai muscoli prima degli arti inferiori, poi degli arti superiori del tronco e del collo, dolori sensibili anche nello stato di riposo esacerbantisi nella palpazione e nei movimenti sia attivi che passivi. Edema cutaneo corrispondente ai muscoli dolenti, tumefazione dei medesimi. Esantema scarlattiniforme alle coscie e ai fianchi della durata di pochi giorni. Sensibilità tattile e termica normali, senso muscolare un poco incerto. Niente altro degno di nota.

Temperatura oscillante da meno di 37 a 38.5, polso 98, respiro normale.

Il 13 decembre con fenomeni polmonari insorti bruscamente si ebbe un rialzo di temperatura 39°, il polso si accelerò 130 e nella mattina del 14 il malato cessò di vivere.

La necroscopia mostrò: Edemi cutanei e muscolari: fatti di broncopolmonite e ipostasi al polmone destro: visceri iperemici: muscoli di tutto il corpo grigio-pallidi edematosi sparsi di strie grigio-giallastre.

Furono eseguite accurate ricerche batteriologiche dai vari visceri, dal sangue e dal succo muscolare, le quali dimostrarono soltanto la presenza del diplococco nel polmone e nella milza, sterile tutto il resto.

L'esame istologico dei vari visceri fissati coi soliti liquidi fissatori mostrò degenerazione albuminoide lieve del rene e del fegato, degenerazione grassa lieve del cuore, edema intenso senza altra alterazione nella pelle.

Nei muscoli alterazioni gravi, diffuse irregolarmente e in vario grado di intensità nello stesso muscolo, alterazioni della fibra solo degenerative, infiltrazioni dello stroma rappresentate da edema intenso, iperemia e lieve emigrazione parvicellulare.

Le degenerazioni che colpivano le fibre erano rappresentate da scomparsa della striatura trasversa e trasformazione della fibra in un cilindro omogeneo, da frammentazione di questo in tanti blocchi di forma e volume irregolare e in detrito granulare, da scomposizione delle fibre in fasci primitivi e in fibrille con aumento notevole del sarcoplasma; da degenerazione grassa non molto intensa e molto irregolarmente distribuita.

In alcune fibre si notava aumento dei nuclei i quali si mostravano contigui, vescicolosi, quasi privi di cromatina, in altre rari fatti di evidente vacuolizzazione.

Da quanto ha esposto, l'A. ritiene completamente confermata la diagnosi di dermatomiosite fatta in vita dal dott. *Pieraccini*, crede che riguardo all'etiologia purtroppo molto oscura di questa malattia il caso

da lui studiato non porti altra luce fuorchè la conferma della assenza di germi patogeni nei focolai degenerativi dei muscoli; ritiene che queste degenerazioni siano prodotte da una sostanza tossica di natura e provenienza ignote, che forse ha affinità speciale pei muscoli o forse agisce su di essi perchè predisposti.

Ad illustrare maggiormente le alterazioni da lui osservate nei muscoli, l'A. presenta all'Accademia preparati microscopici, disegni e fotografie microscopiche di muscoli degenerati.

**Fano.** Domanda al dott. Picchi se egli fece ricerche sulle placche motrici ed esami delle fibre colla luce polarizzata.

**Picchi.** No, perchè non pensò subito all'importanza che avrebbero potuto avere ricerche speciali sulle placche motrici.

**Pieraccini.** Rileva le gravi difficoltà che il medico incontra per differenziare la polimiosite dalla trichinosi; le due malattie presentano tanti punti di contatto che nei trattati si legge che unico elemento diagnostico differenziale importante è l'esame microscopico di un pezzo di muscolo asportato, ed *Hepp* in considerazione di ciò, chiamò la polimiosite *pseudo-trichinosi*.

Per gli studi di *Tayer*, *Bronore* ed altri sappiamo che nella trichinosi si ha un tasso molto alto di leucociti eosinofili nel sangue circolante. È pure risaputo che in molte malattie tossiche ed infettive si ha ipoeosinofilia e spessissimo anaeosinofilia, appunto come espressione del grado d'intossicazione ematica. Come si comportano le cellule eosinofile nella polimiosite? Dal loro contegno è possibile trarre argomento per la diagnosi differenziale fra trichinosi e polimiosite?

Nel caso presentato oggi dal dott. *Picchi*, l'O. che studiò il malato clinicamente, trascurò questa ricerca sul sangue raccolto dal vivente, ma la praticò sul sangue raccolto dal cadavere. Siccome le cellule eosinofile si ritrovano nel sangue cadaverico quando esse cellule si ritrovavano precedentemente nel medesimo sangue raccolto in vita, ed il dott. *Pieraccini*, nel caso di polimiosite, oggi in discussione, incontrò anaeosinofilia assoluta nel sangue cadaverico, così è lecito indurre che anche in vita molto probabilmente si sarebbe ottenuto lo stesso resultato negativo.

Se ulteriori ricerche confermassero questa supposizione dell'O., si verrebbe in possesso di un nuovo sintoma differenziale fra polimiosite e trichinosi, sintoma del più grande interesse e di massima praticità. L'O. accenna a questa supposizione per sollecitare alla indagine quei medici che in avvenire avranno occasione di osservare casi di polimiosite.

**Bottazzi.** Domanda se furono fatte in vita delle ricerche sulla funzione dei muscoli malati.

**Picchi** e **Pieraccini.** Rispondono che tali ricerche non furono fatte perchè il malato morì improvvisamente prima che se ne potesse completare l'esame. Il malato teneva gli arti superiori flessi ed addotti sul tronco. I tentativi di estensione di questi arti riuscivano, ma incontravano una

certa resistenza provocata dal dolore vivissimo che tali movimenti risvegliavano nelle regioni ammalate.

**Bottazzi.** Ritiene che sia interessante studiare in casi simili il tono muscolare, e domanda ancora al dott. *Picchi* se osservò fatti rigenerativi nelle fibre muscolari.

**Picchi.** Non vide cariocinesi, ma in alcune fibre notò un aumento dei nuclei, che egli non potrebbe interpetrare sicuramente come una espressione di fatti rigenerativi.

**Chiarugi.** Domanda al dott. *Picchi* se esaminò le estremità delle fibre, dove più facilmente si osservano i fatti rigenerativi.

**Picchi.** No, avendo preso per l'esame solamente frammenti di ventri muscolari.

**Giunteli.** Domanda se esistono casi di guarigione di dermatomiosite.

**Picchi.** Nella letteratura sono descritti alcuni casi di guarigione nei quali la diagnosi era stata fatta coll'esame di frammenti di muscolo asportati dal malato.

**Lustig.** Domanda se il malato sofferse precedentemente malattie tossiche o tossi-infettive.

**Pieraccini.** Dall'anamnesi resulta che il paziente, robusto lavoratore della terra, fu sempre sano prima di soccombere a questa malattia.

**Dott. Giuseppe Levi.** — *Sui corpi di Call ed Exner dell'ovaio.*

Le formazioni delle quali oggi mi occupo, alle quali fu dato da alcuni AA. il nome di corpi di *Call* ed *Exner*, da altri di « vacuoli epiteliali » si trovano con grande frequenza nei follicoli ovarici di tutti i mammiferi ed hanno a prima vista l'aspetto di voluminosi nuclei, i quali per la loro costituzione e per la reazione microchimica si discostano notevolmente dagli elementi follicolari.

Essi furono osservati per la prima volta da *Bernhardt* e ritenuti da quell'A. come globuli di grasso; *Bischoff* fu il primo ad attribuir loro una natura cellulare; *Flemming* ritiene che essi siano cellule follicolari in disfacimento ed abbiano una parte importante nella formazione del « liquor folliculi; » *Call* ed *Exner* li descrissero minutamente e li interpetrarono quali giovani uova formatesi a spese dell'epitelio follicolare. Altri osservatori si occuparono di tali formazioni, ma non è qui che posso riferirne per esteso le ricerche. Non posso però esimermi dal far cenno del recente lavoro di *Honoré*; quest'A. vede nei corpi in questione una formazione intercellulare, cioè un prodotto dell'attività delle cellule follicolari.

Questi corpi furono da me osservati in ovaie di coniglio, cavia e donna; essi sono frequenti tanto nei giovani follicoli, quanto in quelli più avanzati nello sviluppo; il loro aspetto si modifica grandemente a seconda della fissazione; mentre in ovaie trattate con sublimato si presentano come vacuoli attraversati da un delicato reticolo poco tingibile, in quelle trattate con liquido di *Flemming* o di *Hermann* hanno l'appa-

renza di voluminosi nuclei sferici con una membrana ed un reticolo grossolano e regolare; membrana e reticolo hanno identiche proprietà microchimiche, cioè si tingono coi colori basici, ma con intensità alquanto minore della cromatina nucleare e resistono meno di quella alla decolorazione. Le cellule follicolari sono intimamente aderenti alla loro membrana e sono disposte radialmente intorno ad essi.

Dirò subito che non mi sembra probabile che questi corpi siano di origine intercellulare come vuole *Honoré*. In primo luogo non mi sembra esistano stadî di passaggio fra la sostanza intercellulare che riempie gli spazî fra le cellule follicolari ed i voluminosi corpi reticolati, come vuole quell'A.; inoltre perchè quest'ultimi hanno costantemente una forma sferica, anzichè adattarsi agli spazî intercellulari come nei primi periodi di loro formazione? E se si tratta della stessa sostanza perchè reagisce essa diversamente in presenza dei colori a seconda che ha raggiunto o no il suo completo sviluppo? E perchè ha nel 2° caso un aspetto omogeneo, nel 1° reticolato?

Io credo più probabile che questi corpi abbiano una natura cellulare, come sostennero *Flemming*, *Nagel* ecc. E credo di dimostrare coi miei preparati che la loro prima origine debba ricercarsi in cellule follicolari più voluminose delle altre nelle quali sembra iniziarsi un processo cariocinetico; però le anse cromatiche sono notevolmente allontanate l'una dall'altra più di quel che accada nella profase della cariocinesi tipica. In uno stadio successivo queste cellule aumentano ancora di volume, la cromatina nucleare forma un reticolo a maglie abbastanza regolari e modifica le sue proprietà microchimiche, cioè si colora meno intensamente coi colori nucleari (col metodo di *Biondi* non si tinge in verde come gli altri nuclei); sembra invece presentare una certa elettività per le sostanze le quali colorano specificamente la mucina (tionina, saffranina). Io non ho ancora argomenti sufficienti per affermare con sicurezza che questi elementi debbono la loro origine ad una vera metamorfosi muccosa delle cellule follicolari.

In quanto alla loro sorte definitiva, credo di poter affermare che essi partecipano colla loro dissoluzione alla formazione del « liquor folliculi ». La loro membrana si dissolve ed il reticolo cade nella cavità del follicolo.

**Fano.** Trova interessanti le osservazioni del dott. *Levi* per l'omologia che alcuni vollero rilevare fra le funzioni della tiroide e dell'ovaio, considerando ambedue questi organi come ghiandole a secrezione interna.

**Levi.** Osserva che la funzione di ghiandola a secrezione interna dell'ovaio è localizzata probabilmente e unicamente alla sostanza midollare di quell'organo.

*Il Segretario degli Atti*
C. Comba.

Domenico Cesare Bartolini, *Responsabile*.

Istituto Anatomico di Firenze, diretto dal Prof. G. Chiarugi.

DOTT. F. LIVINI.

# IL TIPO NORMALE E LE VARIAZIONI DELL'*A. CAROTIS EXTERNA*.

## NOTA PRELIMINARE.

Nel corso di ricerche da me istituite sulle arterie tiroidee nell'uomo (1) mi avevano colpito le frequenti e notevoli variazioni che riguardavano, oltrechè la tiroidea superiore, anche gli altri rami della carotide esterna. Fui da ciò invogliato a rivolgere l'attenzione sovra questo distretto arterioso, sebbene tanto esplorato, e fare di esso uno studio metodico, come già avevo fatto per le arterie tiroidee, coll'intendimento precipuo di stabilire anche in questo caso, col motodo statistico, la disposizione più frequente e la frequenza relativa dei tipi che più o meno si discostano da quello normale.

Le osservazioni sono state fatte su 100 cadaveri (49 maschi e 51 femmine) di età variabile tra i 17 e gli 89 anni; in ogni caso da ambedue i lati.

Il cadavere, per le misure e per la determinazione dei rapporti, era mantenuto colla testa in una posizione intermedia fra la flessione e la estensione.

Nella presente Nota vengono succintamente riferiti i resultati di queste osservazioni nell'uomo.

(1) Livini F. — Studio morfologico delle arterie tiroidee. Con 2 tav. e 20 zincotipie nel testo. — *Sperimentale* (*Arch. di Biologia norm. e patol.*), *An. 54, Fasc. 1. Firenze, 1900.*

## A. carotis externa.

I. — *Origine.*

L'origine della carotide esterna, o in altre parole la divisione della a. carotide comune nei rami terminali, può avvenire: all'altezza del margine superiore della cartilagine tiroide, ovvero più in alto o più in basso e precisamente fra 4 centim. sopra e 4 centim. sotto il margine ora ricordato. Nel maggior numero dei casi, contrariamente a ciò che da quasi tutti si afferma, la divisione della carotide comune ha luogo *al disopra del margine superiore della cartilagine tiroide* (71 °/₀), e, precisando, il più spesso 1 centim. sopra questo punto; mentre molto più di rado, e presso a poco con ugual frequenza, avviene *a livello* (15 °/₀) o *al disotto* (14 °/₀) di esso margine.

II. — *Divisione nei rami terminali.*

Per la determinazione del punto al quale ha luogo la divisione della carotide esterna nei rami terminali, ho creduto ben fatto riferirmi all'angolo della mandibola, perchè facile punto di ritrovo anche nel vivente. La divisione in parola può avvenire a differente altezza, e cioè da 1 ½ a 5 ½ centim. sopra l'angolo testè ricordato: nel maggior numero dei casi 4 centim. Se ora si considera che l'altezza della mandibola, misurata in linea retta dall'angolo alla superficie superiore del condilo, è il più spesso 7 centim. (come è resultato da misure ch'io prendevo volta per volta nei soggetti che mi servivano per le ricerche sulle arterie), ne consegue che il livello al quale normalmente ha luogo la divisione della carotide esterna nei rami terminali corrisponde poco al di sopra del punto di mezzo dell'altezza del ramo della mandibola, ad un livello, cioè, più basso del collo del condilo di questa, e quindi più in basso di quanto universalmente si ammette.

III. — *Lunghezza.*

In rapporto colle variazioni del punto di origine e di terminazione, varia notabilmente la lunghezza della carotide esterna. Questa infatti oscilla fra 3 e 11 centim.: nel maggior numero dei casi è di 7 centim.

IV.— *Calibro all'origine, in confronto a quello della « A. carotis interna. »*

Il calibro della carotide esterna, all' origine, varia fra 4 ed 11 millim.: il più spesso è di 6. Quello della carotide interna varia fra 4 e 13 millim.: il più spesso è di 8.

Da opportuni raffronti è poi resultato che il più di sovente la carotide esterna ha un calibro inferiore alla carotide interna (75 °/₀); più di rado i due vasi hanno ugual calibro (23,5 °/₀); eccezionalmente quello della carotide esterna sorpassa quello della carotide interna (1, 5 °/₀).

V. — *Decorso.*

Si incontrano, nella maniera di decorrere della carotide esterna, variazioni innumerevoli: mi limito qui ad indicare la disposizione più frequente. L' arteria si porta, di solito rettilinea, meno spesso flessuosa, verticalmente in alto fino ad una altezza che varia da 1 cm. sotto l' angolo della mandibola (rarissimo) a 2 cm. sopra questo punto; allora piega in fuori, ora dolcemente, ora bruscamente quasi ad angolo retto, e si colloca lateralmente alla carotide interna; infine, raddrizzandosi, descrive, da questo punto alla terminazione, una curva a convessità volta in fuori e un po' indietro.

VI. — *Rapporti.*

Dei rapporti della carotide esterna ho tenuto conto solamente: 1) della posizione che, all' origine, essa ha rispetto alla carotide interna; 2) del livello al quale l' ipoglosso la incrocia. Della prima perchè differentemente indicata dai varii Trattatisti; del secondo perchè generalmente trascurato.

1) Posizione relativa della carotide esterna e della carotide interna all' origine.

Possono le due arterie occupare, all' origine, una rispetto all' altra, una posizione che molto diversifica nei varii soggetti ed anche nei due lati dello stesso individuo. Accenno qui soltanto che nel maggior numero dei casi la carotide esterna risiede ventralmente ed un pochino medialmente rispetto alla carotide interna, ricoprendo quest'ultima in buona parte.

2) Rapporto della carotide esterna coll' ipoglosso.

In relazione col differente livello al quale può la carotide

esterna originarsi, l'ipoglosso la incrocia, passandole ventralmente, a distanza variabile dalla sua origine. Ciò infatti può avvenire ad altezze comprese entro questi limiti: all'origine della carotide esterna e 6 cm. al disopra di questo punto: nella maggior parte dei casi 2 centim. sopra.

VII. — *Rami collaterali.*

Mi piace tosto rilevare come la descrizione classica, secondo la quale la carotide esterna fornisce 6 rami collaterali, non corrisponda nella grande maggioranza dei casi alla realtà. Oscillando, di fatto, il numero di questi rami tra un minimo di 4 ed un massimo di 12, più frequentemente è di 9. Poichè alcuni dei rami che dalla carotide esterna si staccano, oltre i 6 comunemente descritti (tiroidea superiore, linguale, faciale, occipitale, auricolare posteriore, faringea ascendente), si incontrano con notevole frequenza, e poichè sono spesso di un discreto calibro, non di rado uguale o anche superiore al calibro di qualcuno dei 6 rami ora rammentati, così non è ragionevole il trascurarli come si fa da quasi tutti i Trattatisti moderni, i quali, al più, si limitano a farne cenno al capitolo delle « Varietà ». Tanto più poi in quanto l'uno o l'altro dei 6 rami comunemente descritti può mancare, e qualcuno anche con una certa frequenza. Ciò premesso, eccomi ai particolari.

I rami che posson nascere dalla carotide esterna sono in numero di 16. Alcuni di essi mancano rarissime volte; altri rarissime volte si incontrano, e fra questi due estremi esistono gradi intermedii. Sotto il punto di vista della frequenza con la quale si trovano, procedendo da quelli che son presenti più spesso a quelli che lo sono più di rado, i rami collaterali della carotide esterna debbono esser classati nell'ordine che segue:

1. A. faciale (*A. maxillaris externa*). — Manca rarissimamente. Questo desumo da ciò che viene indicato da alcuni Autori i quali però non accennano alla percentuale, che d'altra parte io non posso stabilire perchè nei soggetti da me esaminati l'arteria in questione era sempre presente.

2. A. linguale (*A. lingualis*). — Esiste nel 99,5 % dei casi: ho trovato infatti che essa era assente in un caso e da un sol lato.

3. A. occipitale (*A. occipitalis*). — Esiste, come ramo della carotide esterna, nel 98 °/₀ dei casi: nasceva di fatto 1 volta nell' angolo di biforcazione della carotide comune (0,5 °/₀), e 3 volte mancava (1,5 °/₀).

4. A. auricolare posteriore (*A. auricolaris posterior*). — Esiste, come ramo della carotide esterna, nel 95,5 °/₀ dei casi; sorgeva infatti: 1 volta dall' angolo di biforcazione della carotide comune (0,5 °/₀); 1 dalla temporale superficiale (0,5 °/°); 1 dalla carotide interna (0,5 °/₀); 6 volte mancava (3 °/₀).

5. A. parotidee (*Rami parotidei*). — Generalmente in numero di due, si incontrano nel 95 °/₀ dei casi.

6. A. tiroidea superiore (*A. thyreoidea superior*). — Si trova, come ramo della carotide esterna, nell'89,5 °/₀ dei casi: nasceva infatti 18 volte dalla carotide comune (9 °/₀), e 3 volte mancava (1,5 °/₀).

7. A. faringo-meningea (*A. pharyngea ascendens*). — Esiste, come ramo della carotide esterna, nell'81 °/₀ dei casi: proveniva di fatto dall' angolo di biforcazione della carotide comune 20 volte (10 °/₀); dalla carotide interna 6 volte (3 °/₀); era assente 12 volte (6 °/₀).

Nascono poi dalla carotide esterna le seguenti arterie con la percentuale indicata:

8. A. sterno-cleido-mastoidea (*A. sterno-cleido-mastoidea*), nel 42 °/₀.

9. A. faringea, nel 40 °/₀.

10. A. masseterina (*A. masseterica*), nel 40 °/₀.

11. A. per i muscoli pterigoidei (*R. pterigoideus*), nel 14,5 °/₀.

12. A. per il muscolo stilo-joideo e pel ventre posteriore del digastrico, nel 14 °/₀.

13. A. laringea superiore (*A. laryngea superior*), nel 12,5 °/₀.

14. A. auricolare anteriore (*Ramus auricolaris anterior*), nell' 11 °/₀.

15. A. trasversa della faccia (*A. transversa faciei*), nel 4 °/₀.

16. A. temporale media (*A. temporalis media*), nel 0,5 °/₀.

Di ognuno di questi rami è stato preso in considerazione: l'origine; il decorso nel tratto iniziale; il calibro, all'origine rispetto a quello degli altri rami. Dirò dapprima dell'origine e del decorso dei singoli rami; indicherò alla fine sommariamente il loro calibro relativo.

1. *A. maxillaris externa.*

Origine. — Contrariamente alla affermazione di alcuni Autori (Theile [1]) l'origine della faciale non avviene ad un livello costante. L'arteria infatti può sorgere dalla carotide esterna fra $^1/_2$ centim. e 7 centim. al disopra della biforcazione della carotide comune: nel caso più frequente nasce $2\,^1/_2$ centim. sopra questo punto, dal lato anteriore della carotide esterna.

La faciale si stacca da questa isolatamente nel 75 °/₀ dei casi; per un tronco comune colla linguale nel 25 °/₀.

Decorso. — Varia il decorso specialmente in rapporto con l'origine più o meno elevata del vaso. Il più spesso questo volge in avanti ed in alto, o in avanti, in alto e medialmente, facendo con la carotide esterna: ora un angolo molto aperto in alto, e questo è il caso più comune; ora un angolo acutissimo, tanto da decorrere, per un certo tratto, parallelo alla carotide stessa.

2. *A. lingualis.*

Origine. — La linguale può sorgere in un tratto compreso fra l'origine della carotide esterna e 5 centim. al disopra di questo punto: nel maggior numero dei casi 2 centim. sopra, dal lato interno di essa carotide.

Nel 73 °/₀ dei casi l'arteria nasce isolatamente; per un tronco comune con altre arterie nel 27 °/₀, e precisamente: colla faciale (25 °/₀); colla tiroidea superiore (1,5 °/₀); colla faringo-meningea (0,5 °/₀).

Decorso. — Variabilissimo è il decorso della linguale nel tratto iniziale. Così si comporta il più di frequente: l'arteria si dirige sia verticalmente in alto, decorrendo allora parallela alla carotide esterna, sia obliquamente in alto, in avanti ed in

[1] Theile. — Enciclopedia anatomica: Trattato di Miologia e di Angiologia. — *Napoli, 1882.*

dentro; dopo aver percorso, in questo senso, un tragitto di lunghezza variabile, piega in basso descrivendo una curva a convessità superiore.

Rapporto coll'ipoglosso. — Per le possibili applicazioni pratiche, ho tenuto conto del rapporto che la linguale contrae, all'origine, col nervo ipoglosso.

Può avvenire: 1) che l'arteria corrisponda al disotto del nervo, fino a 2 $^1/_2$ centim.; 2) che questo incroci l'arteria all'origine; 3) che questa corrisponda al disopra del nervo, fino a 2 $^1/_2$ centim. Il 1° è il caso più frequente.

3. *A. occipitalis.*

Origine. — Può l'occipitale sorgere dalla carotide esterna all'origine di questa o 6 centim. al disopra, con tutti i gradi intermedii: nella più parte dei casi 2 cent. sopra, allo stesso livello cioè al quale sorge il più spesso la linguale, però dal lato posteriore della carotide esterna. L'arteria che ora ci occupa è, per la sua origine, una delle più variabili fra le collaterali della carotide esterna, nel senso che alcune delle variazioni s'incontrano con una percentuale che non differisce moltissimo da quella del tipo più frequente.

Nel 70,9 % dei casi l'occipitale nasce isolatamente, nel 29,1 % per un tronco comune con altre arterie, e precisamente: più spesso colla faringo-meningea (16,3 %); più di rado colla auricolare posteriore (11,8 %); eccezionalmente con l'una e con l'altra di queste due arterie (1 %).

Decorso. — Esistono poche variazioni nel decorso della occipitale. Di solito, dall'origine essa volge in alto, indietro ed in fuori, facendo con la carotide esterna un angolo acuto, talora tanto che decorre per un lungo tratto parallela a questa.

4. *A. auricolaris posterior.*

Origine. — Il punto di origine della auricolare posteriore varia entro limiti ancora più estesi di quelli della occipitale; l'arteria può infatti distaccarsi dalla carotide esterna all'origine e fino a 8 centim. sopra questo punto: nel maggior numero dei casi 5 centim., 3 centim. cioè più in alto del livello al quale sorge il più spesso la occipitale, ordinariamente dal lato posteriore della carotide esterna.

Abbiamo veduto come la auricolare posteriore nasca per un tronco comune colla occipitale nell'11,8 °/₀ dei casi, e con questa e la faringo-meningea nell'1 °/₀.

Decorso. — Nel tratto iniziale il decorso della auricolare posteriore corrisponde a quello della occipitale; essa volge cioè in alto, indietro ed in fuori, facendo con la carotide esterna un angolo più o meno acuto.

5. *R. parotidei.*

È raro (5 °/₀) che la carotide esterna non fornisca, in maggiore o minor prossimità della sua divisione nei rami terminali, arterie, spesso di un discreto calibro, destinate alla ghiandola parotide, sia esclusivamente, sia anche alle parti prossime (al tegumento; al padiglione dell'orecchio; ai muscoli massetere, pterigoidei, stilo-joideo, ventre posteriore del digastrico....). Il numero di queste arterie varia da 1 a 4: il più spesso esse sono 2.

Origine. — Varia il loro punto di origine da 2 ½ a 10 ½ centim. sopra la biforcazione della carotide comune: le più volte circa 6 centim. sopra il livello indicato. Da opportuni raffronti è resultato che questo punto corrisponde ad 1 centim. prima della divisione della carotide esterna nei rami terminali. Di solito è dal lato esterno della carotide che le arterie parotidee si staccano.

Quando sono più di una, nascono ora vicine ora lontane l'una dall'altra: le modalità a tale riguardo sono innumerevoli, e quindi senza importanza; mi limito ad indicare che, prendendo il caso più frequente nel quale se ne trovano 2, la distanza, in altezza, che fra di esse intercede è generalmente di 1 centimetro.

Decorso. — Dall'origine le arterie parotidee si portano il più spesso in fuori e si ramificano ben presto nella parotide.

6. *A. thyreoidea superior.*

Di questa arteria io mi sono occupato in altro lavoro [1], e le presenti ricerche sono la semplice conferma delle precedenti.

Origine. — Considerando qui la tiroidea superiore solo in

---

[1] Livini F. — *Loc. cit.*

quanto è ramo della carotide esterna, i limiti entro i quali essa può sorgere sono i seguenti: in basso l'origine della carotide esterna, in alto 2 $^1/_2$ centim. sopra questo punto. Come si vede, tra le collaterali finora prese in esame, la tiroidea superiore è quella il cui punto di origine oscilla entro limiti più ristretti. Il più spesso essa nasce dal lato interno della carotide esterna, proprio all'origine, in modo che, come da alcuni vien fatto rilevare, la carotide comune sembra risolversi non in 2, ma in 3 rami terminali.

L'arteria in questione nasce quasi sempre isolatamente; molto di rado (1,5 $^o/_o$) per un tronco comune colla linguale.

Decorso. — Varia assai il decorso della tiroidea superiore; il caso più frequente è che dall'origine essa volga obliquamente in basso, in avanti ed in dentro, verso l'apice del corrispondente lobo tiroideo, facendo con la carotide esterna un angolo più o meno acuto aperto in basso.

7. *A. pharyngea ascendens.*

Tra i varii nomi coi quali dai Trattatisti viene questa arteria chiamata, sembra a me preferibile quello di a. faringo-meningea, per questo: come vedremo, esiste frequentemente un'altra arteria che nasce dalla carotide esterna, destinata, almeno in gran parte, alla faringe e che ha talora un calibro non inferiore a quello della faringo-meningea; ora ciò che permette di riconoscere l'una dall'altra è che quest'ultima dà rami meningei. Questo è almeno sembrato a me il criterio più razionale per distinguere tra loro le due arterie, allorchè esistono contemporaneamente.

Origine. — La faringo-meningea può sorgere all'origine della carotide esterna o più in alto, fino a 5 $^1/_2$ centim. al disopra di questo punto: nella maggioranza dei casi 2 centim. sopra, di solito dal lato posteriore, allo stesso livello al quale le più volte nascono la linguale e la occipitale [1].

Abbiamo già veduto com'essa sorga per un tronco co-

---

[1] Anche allorchè la faringo-meningea proviene dalla carotide interna, il livello al quale si stacca varia, corrispondendo esso ora presso l'origine della carotide interna, ora 3 centim. al di sopra, con gradi intermedii.

mune colla occipitale nel 16,3 % dei casi; eccezionalmente (1 %) con questa e l'auricolare posteriore; eccezionalmente pure (circa 1 % o anche meno) colla linguale, colla laringea superiore, colla sterno-cleido-mastoidea.

Decorso. — Quasi senza eccezione la faringo-meningea si dirige verticalmente in alto decorrendo per un certo tratto parallela alla carotide esterna.

8. *A. sterno-cleido-mastoidea.*

Di questa arteria, destinata, come dice il suo nome, al muscolo sterno-cleido-mastoideo, parlai nel lavoro più volte citato [1]; mi limito ora a riferirne, in quanto è ramo della carotide esterna.

Origine. — Può la sterno-cleido-mastoidea nascere da quest'ultima all'origine o più in alto fino a 6 centim. sopra questo punto: nella grande maggioranza dei casi 2 centim. sopra, dal lato esterno, allo stesso livello al quale sorgono il più spesso la linguale, la occipitale, la faringo-meningea.

Decorso. — Varia il decorso dell'arteria che ci occupa. Il più spesso essa si dirige dapprima in alto ed in fuori; poi si ripiega descrivendo una curva a convessità superiore; si fa allora discendente e perviene alla faccia profonda del muscolo omonimo ove si ramifica. La curva testè ricordata viene, di solito, dall'arteria descritta attorno all'ipoglosso, che è in tal modo abbracciato da un'ansa vascolare.

9. *A. faringea.*

Esiste, come abbiamo veduto, nel 40 % dei casi, un'arteria (di rado due), di cui il calibro varia notabilmente nei varii soggetti, destinata principalmente alla parte più alta della parete laterale della faringe, talora, oltre che alla faringe, anche alla tonsilla, al velo palatino, alla parotide, alla ghiandola sottomascellare, alla muscolatura della lingua, ai muscoli pterigoidei. Sul significato di questa arteria verrà accennato nel lavoro completo.

Origine. — Può essa nascere da 1 a 7 centim. al disopra, dell'origine della carotide esterna; il più spesso 3-3 ½ centim.

---

[1] Livini F. — *Loc. cit.*

dal lato interno, in prossimità del punto ove si stacca normalmente la faciale.

Decorso. — Il vaso si porta quasi sempre in alto ed in dentro, facendo con la carotide esterna un angolo molto acuto aperto in alto.

10. *A. masseterica.*

Questa arteria è principalmente destinata al muscolo massetere, ma fornisce talora ramuscoli anche alla parotide, ai muscoli della faccia prossimi al massetere ed al tegumento, e si anastomizza spesso con rami della faciale e della trasversa della faccia. Talvolta questa arteria supplisce l'arteria omonima (che proviene normalmente dalla mascellare interna) assente; talora i due vasi esistono contemporaneamente.

Origine. — Il livello al quale nasce l'arteria masseterina varia da 2 $^1/_2$ a 9 centim. sopra l'origine della carotide esterna: nella maggioranza dei casi 6 centim. (1 centim. prima della divisione della carotide esterna nei rami terminali), per lo più dal lato anteriore.

Decorso. — Notevoli variazioni presenta quest'arteria per il suo decorso, in rapporto con la sua origine più o meno elevata; questo il caso più frequente: essa si porta orizzontalmente in dentro, ricoperta dalla parotide, e raggiunge il massetere un po' al disotto del punto di mezzo del margine posteriore; decorre alla faccia superficiale del muscolo, mentre si ramifica, distribuendosi nella maniera disopra indicata.

11. *R. pterigoideus.*

È questo un esile ramo destinato al muscolo pterigoideo interno o a questo e al pterigoideo esterno, e dal quale si staccano spesso ramuscoli per la parotide. Esistendo questo ramo, ora mancano ed ora no i rami pterigoidei dati normalmente dalla mascellare interna.

Origine. — Può nascere a differente altezza e precisamente fra 3 e 9 centim. sopra l'origine della carotide esterna: nel maggior numero dei casi 5 $^1/_2$ centim., dal lato interno.

Decorso. — Dall'origine l'arteria va in alto ed indentro, verso i muscoli ai quali è destinata, facendo con la carotide esterna un angolo più o meno acuto.

12. *A. per il muscolo stilo-joideo e per il ventre posteriore del digastrico.*

Anche questo ramo è generalmente molto esile e spesso, oltre che allo stilo-joideo ed al ventre posteriore del digastrico, fornisce ramuscoli anche alla parotide.

Origine. — Varia la sua origine fra 3 e 8 $^1/_2$ centim. sopra l'origine della carotide esterna: nel maggior numero dei casi 6 centim. (1 centim. prima della divisione di quella nei rami terminali), per lo più dal lato esterno.

Decorso. — Normalmente l'arteriola si dirige in alto ed in fuori, verso i muscoli ai quali è destinata.

13. *A. laryngea superior.*

Anzichè dalla tiroidea superiore, la laringea superiore nasce talora dalla carotide esterna, e ciò, come altrove fu indicato, nel 12,5 $^0/_0$ dei casi.

Origine. — Il livello al quale l'arteria si stacca varia entro questi limiti: all'origine della carotide esterna e 3 $^1/_2$ centim. sopra questo punto; le più volte 1 centim. sopra, e quasi sempre dal lato interno.

Decorso. — In vario modo si comporta la laringea superiore nel suo decorso. Accenno qui che il più spesso l'arteria volge in alto ed in dentro; dopo aver percorso, ascendente, un tratto più o meno lungo si ripiega in basso ed in dentro, descrivendo una curva a convessità superiore, e si porta così verso la membrana tiro-joidea.

14. *R. auricolaris anterior.*

La carotide esterna fornisce talvolta (11 $^0/_0$ dei casi) un' arteria di un discreto calibro (relativamente agli altri collaterali) che si distribuisce alla parte inferiore ed esterna del padiglione dell' orecchio, talora al tratto più esterno (superficie anteriore) del condotto auditivo esterno, dando per lo più qualche ramuscolo alla parotide. In alcuni casi quest' arteria sostituisce il ramo o i rami omonimi che provengono dalla temporale superficiale; talora invece sono presenti l'una e gli altri.

Origine. — Questa arteria può sorgere fra 4 $^1/_2$ e 9 centim. sopra l'origine della carotide esterna: il più spesso 6 $^1/_2$–7

centim. (2-5 millim. prima della divisione della carotide esterna nei rami terminali), dal lato esterno.

Decorso. — Dall' origine il vaso si porta o in alto direttamente, o in alto ed indentro.

15. *A. transversa faciei.*

Occorre spessissimo di vedere la trasversa della faccia nascere dalla temporale superficiale proprio all'origine, per modo che si potrebbe con qualche ragione affermare che la carotide esterna normalmente si risolva non in due, ma in tre rami terminali. Che però quella si stacchi dal tronco della carotide esterna, prima della divisione, è molto raro (4 °/₀). In tali casi origina sempre appena qualche millim. prima della divisione stessa, non mai più di ½ centim. sotto questo punto.

16. *A. temporalis media.*

Eccezionalmente la temporale media, anzichè dalla temporal superficiale nasce dalla carotide esterna. Ho osservato un solo di tali casi (0,5 °/₀), nel quale l'arteria si staccava dal lato posteriore della carotide esterna, ½ centim. prima della sua divisione nei rami terminali.

Calibro relativo dei rami collaterali della carotide esterna.

Avuto riguardo al calibro dei rami collaterali della carotide esterna, procedendo dai più grossi ai più piccoli, essi debbono esser classificati come segue:

*a*) a. faciale,

*b*) a. linguale,

*c*) a. tiroidea superiore,

*d*) a. occipitale,

*e*) a. auricolare posteriore,

*f*) a. faringo-meningea, a. traversa della faccia, a. temporale media, a. faringea, a. sterno-cleido-mastoidea,

*g*) a. laringea superiore, a. masseterina, a. auricolare anteriore, a. parotidee più grosse,

*h*) a. per i muscoli pterigoidei, a. per lo stilo-joideo e per il ventre posteriore del digastrico, a. parotidee più piccole.

Questa è la regola; ma si osservano in essa eccezioni non

rare che sarebbe troppo lungo, e d'altronde senza interesse, l'enumerare. Basti, a tal proposito, accennare che l'una o l'altra delle arterie che per il loro calibro occupano di solito uno dei primi posti, possono invece essere tra le più piccole, e viceversa.

Rimane ora da indicare, esistendo un determinato numero di rami collaterali della carotide esterna, quali sono questi rami. Qui mi limito a considerare il caso più frequente, che cioè essi sieno 9.

Si incontrano il più spesso e con ugual frequenza i tipi seguenti:

*a)* faciale, linguale, occipitale, auricolar posteriore, tiroidea superiore, faringo-meningea, faringea, 2 arterie per la parotide esclusivamente o 1 parotidea, e 1 parotidea-masseterina.

*b)* faciale, linguale, occipitale, auricolar posteriore, tiroidea superiore, faringo-meningea, sterno-cleido-mastoidea, 2 arterie per la parotide esclusivamente, o 1 parotidea ed 1 parotidea-masseterina.

*c)* faciale, linguale, occipitale, auricolar posteriore, tiroidea superiore, faringo-meningea, 3 rami o esclusivamente parotidei, oppure 2 parotidei e 1 masseterino, o 2 parotidei e 1 auricolare anteriore, o 2 parotidei e 1 per lo stilo-joideo e pel ventre posteriore del digastrico.

* * *

Questi, in succinto, i risultati principali delle mie ricerche. I particolari relativi ai diversi tipi che più o meno si discostano da quello normale, come anche la parte storica dell'argomento, la parte anatomo-comparativa e le considerazioni generali troveranno posto nel lavoro completo con illustrazioni che vedrà prossimamente la luce nell'Archivio Italiano di Anatomia e di Embriologia.

Istituto di Anatomia patologica di Torino. (Prof. Pio Foà).

# ANEMIA SPLENICA E LEUCEMIA.

OSSERVAZIONI

DEL

DOTT. UGO FRIZZONI

Il 25 luglio 1901 presentai come tesi di laurea sotto il titolo di « anemia splenica e leucemia » alcune osservazioni di anatomia patologica, raccolte nel laboratorio del prof. *Foà*, sopra un caso di anemia splenica terminato in leucemia.

Siccome i dati clinici che avevo raccolto erano scarsi ed incerti, non avevo potuto emettere che semplici ipotesi sul decorso della malattia che precedette la morte.

A colmare tale lacuna vennero assai a proposito le osservazioni cliniche sul medesimo caso pubblicate dal dott. *Guerra* nella *Gazzetta medica di Torino* del 15 agosto 1901, n. 33, per cui credetti interessante rendere pubblico questo mio lavoro, facendolo precedere in modo riassuntivo dai dati clinici che tolgo dalla diligente comunicazione del dott. *Guerra*.

Bambina di 10 anni, da Cornegliano d'Alba, campagnuola.

Nulla di notevole nel gentilizio e nell'anamnesi remota.

Nel febbraio 1900 incominciò a gonfiarsi il ventre, e la milza andò man mano aumentando di volume. Non s'accorse mai d'aver febbre. Il 23 ottobre entrò nell'ospedale, e all'esame fisico presentava: scheletro regolare con nessun segno di rachitismo, pelle e mucose pallide, nutrizione scadente. Qualche piccola ghiandola agli inguini e al collo. Normali gli organi toracici. Addome tumido, teso; dolore alla palpazione dell'epigastrio e dell'ipocondrio di sinistra; mancava l'ascite. La milza,

globosa, dura, liscia, con una forte incisura al suo margine antero interno, arrivava in alto alla VII costa, in basso a un dito sotto l'ombelicale trasversa, in dietro sul prolungamento dell'ascellare posteriore, in avanti sul prolungamento della parasternale sinistra. Del fegato si palpava il bordo assottigliato, rigido. Limiti: in alto, VI costa sulla papillare, VII costa sull'ascellare anteriore, VIII costa sull'ascellare media; in basso, tre dita sopra l'ombelico sulla linea mediana, due dita sotto l'arco costale sulla papillare e sull'ascellare media. La temperatura rettale presentava un massimo di 38°,2 la sera; polso regolare, piccolo, frequente; orina 1300-1400, densità 1016-1018, nulla d'anormale. Alvo regolare.

L'esame del sangue fatto il 25 ottobre dava: Emometria *Fleischl* 45 °/₀; Globuli rossi 3,800,000; Valore globulare 0,58; Globuli bianchi 26,200, di cui: Polinucleati neutrofili 72 °/₀; Leucociti mononucleati con predominio dei linfociti piccoli 22,3 °/₀; Cellule eosinofile 3,5 °/₀.

Inoltre si notava qualche grande linfocito con scarse granulazioni neutrofile e con nucleo grande reniforme poco colorato (Uebergangsformen di *Ehrlich*). Qualche normoblasta.

L'A. sottoposta ad una cura arsenicale ebbe qualche miglioramento dello stato generale nel primo mese: poi le condizioni andarono rapidamente peggiorando. La temperatura raggiunse i 39,5 la sera con qualche intervallo apiretico di 4 a 6 giorni.

L'esame del sangue praticato il 1° gennaio dava: Emometria *Fleischl* 30 °/₀; Globuli rossi 3,200,000; Valore globulare 0,46; Globuli bianchi 86,400, di cui: Polinucleati neutrofili 70 °/₀; Leucociti mononucleati con predominio dei linfociti piccoli 16 °/₀; Cellule eosinofile 7,5 °/₀; Mielociti ed Uebergangsformen di *Ehrlich* 6,57 °/₀ con predominio dei mielociti. Qualche normoblasta.

Esame del 26 gennaio: Emometria *Fleischl* 25 °/₀; Globuli rossi 2,240,000; Valore globulare 0,55; Globuli bianchi 106,000, di cui: Polinucleati neutrofili 65,5 °/₀; Leucociti mononucleati (come sopra) 17 °/₀; Cellule eosinofile 7,8 °/₀; Mielociti, di cui alcuni con granulazioni eosinofile 9,3 °/₀; Poichilocitosi, numerosi normoblasti.

Esame del 4 febbraio: Emometria *Fleischl* 22 °/₀; Globuli rossi 2,120,000; Valore globulare 0,57; Globuli bianchi 98,000, di cui: polinucleati neutrofili 54 °/₀; Leucociti mononucleati (come sopra) 21 °/₀; Cellule eosinofile 6,35 °/₀; Mielociti (come sopra) 18,5 °/₀; Qualche Uebergangsformen di *Ehrlich*; numerosi normoblasti.

Lo stato generale dell'ammalata era molto aggravato. Si notavano edemi generalizzati, ascite, versamento pleurico bilaterale. Il fegato giungeva all'ombelicale trasversa; la milza tre dita al disotto. Le orine erano scarse torbide acide dens. 1022; urea 9-10 °/₀₀; abbondanti urati, cristalli di acido urico, tracce d'albumina. Ebbe qualche epistassi, ma nessun'altra emorragia. Negli ultimi giorni scariche diarroiche con globuli bianchi e molto muco. Morì l'8 febbraio.

Dalle osservazioni cliniche sopra riferite risulta che la sintomatologia del caso in questione variò lungo il decorso della malattia. La leucocitosi dapprima moderata andò aumentando gradatamente; inoltre ad un certo periodo della malattia si ebbe la comparsa nel sangue di mielociti il cui numero andò rapidamente aumentando. Cosicchè il dott. *Guerra* conclude che « se da principio il quadro offertoci dell'ammalata era quello dell'anemia splenica a tipo infantile, in ultimo invece fu quello di una leucemia spleno-midollare ».

* * *

Vediamo ora a quali altre considerazioni ci può portare l'esame anatomo-patologico.

L'autopsia, che venne fatta dal prof. *Foà*, presentò il seguente reperto che ho riportato dal registro delle autopsie: N. 6951.

Anemia profonda del cervello.

Cuore molto pallido contenente sangue non molto scolorito.

Idrotorace a sinistra ed edema polmonare. Atelettasia del lobo inferiore del polmone destro con bronco-pneumonite confluente.

Molto ampia la vena splenica.

Milza voluminosa con superficie glabra, con polpa abbondante senza però che siano visibili i follicoli malpighiani: la milza presenta alcuni infarti necrobiotici di cui uno in preda a rammollimento puriforme. Si trovano pure delle milze succenturiate.

Reni anemici.

Fegato molto ingrandito, glabro; non è riconoscibile ad occhio nudo una evidente infiltrazione leucemica.

Gangli linfatici piuttosto grossi, specialmente quelli cervicali.

Aorta normale.

A questo reperto si deve aggiungere che il midollo della diafisi delle ossa lunghe era assai scarso e presentava un colorito roseo.

*Reperto bacteriologico.* — Il sangue estratto dal cuore, e la spremitura di fegato e milza furono coltivati nei comuni mezzi di coltura: si ebbe lo sviluppo di streptococchi a brevi catenelle. I vari organi nei quali furono trovati gli streptococchi non diedero reazione piogena.

L'esame microscopico dei pezzi anatomici fissati in alcool diede il seguente reperto:

I preparati di midollo delle coste, ottenuti per strisciamento e poi fissati a 110° e colorati con ematossilina ed eosina o colla miscela triacida di *Ehrlich*, mostrano che: i normoblasti costituiscono all'incirca la metà del numero totale dei globuli rossi; alcuni si avvicinano per grandezza ai megaloblasti: molti contengono un nucleo polimorfo, altri più nuclei o frammenti di nuclei.

La grande maggioranza degli elementi propri del midollo è costituita da grosse cellule con un unico nucleo prevalentemente ovalare e rotondo. Parecchie di queste cellule contengono delle fini granulazioni neutrofile, mentre sono scarsissime quelle che contengono granuli eosinofili. Sono pure assai scarsi gli elementi polinucleati sia a granuli neutrofili che a granuli eosinofili. Discretamente numerosi i linfociti. Colorando colla soluzione di bleu di metilene *Ehrlich* e acido cromico (metodo *Foà*) si scorgono elementi a granuli basofili (mastzellen) e scarsi streptococchi.

I preparati del midollo delle ossa lunghe ottenuti per sezione danno presso a poco lo stesso reperto.

Si nota inoltre qualche megacariocita.

La milza si presenta assai interessante all'esame microscopico.

I preparati ottenuti da spremitura della milza fresca e poi fissati e colorati, mostrano: normoblasti in grande quantità, di cui alcuni contengono un nucleo polimorfo o più nuclei; grossi elementi a nucleo prevalentemente ovale contenenti finissime granulazioni neutrofile, altri, meno numerosi con granulazioni eosinofile. Anche qui streptococchi in discreta quantità.

Molteplici sezioni praticate in vari punti della milza diedero il reperto che qui riassumo:

La capsula è leggermente ispessita. Il connettivo interstiziale è abbondante. I follicoli malpighiani in alcuni punti sono totalmente sostituiti da connettivo povero di cellule, in altri conservano ancora alla periferia un discreto numero di linfociti. Si notano numerose aree necrotiche ed emorragiche, da infarti antichi e recenti, in vari punti del parenchima, ma preferibilmente alla periferia dell' organo. Gli infarti antichi sono separati dal parenchima integro da abbondante connettivo interstiziale sclerosato con ricca precipitazione di sali calcarei; quelli più recenti sono circondati da connettivo meno abbondante che va perdendosi nel tessuto circostante in cui si nota congestione dei vasi ed emorragie. In queste zone che circondano gl' infarti recenti si notano pure numerosi accumuli di streptococchi. Nelle zone necrotiche numerosi vasi trombizzati e la fibrina si estende in piccola parte anche al di fuori di essi. Il parenchima integno presenta una ricca infiltrazione di elementi che hanno tutti i caratteri di quelli descritti nel midollo delle ossa. Si tratta cioè di numerosi normoblasti e di grossi elementi mononucleati a protoplasma piuttosto abbondante; parecchi contengono granulazioni eosinofile. Sono evidentemente elementi midollari. (Causa il fissaggio non adatto (alcool) non ho potuto ottenere la colorazione dei granuli neutrofili colla miscela triacida di *Ehrlich*). A questi si devono aggiungere un discreto numero di megacariociti, di cui alcuni contengono dei leucociti inglobati, qualche leucocita polinucleato, qualche elemento basofilo (mastzelle), qualche fagocito e certi elementi nucleati a protoplasma colorato intensamente in rosso bruno scuro colla miscela triacida di *Ehrlich*; che probabilmente si devono interpretare come normoblasti giovani (reizungsformen).

Tutti questi elementi riempiono le vene capillari (*Köllikcr*), ma si trovano anche sparsi per tutto il parenchima, ed alle volte riuniti a piccoli focolai disseminati. In questi poi si notano per lo più parecchi elementi della stessa varietà, per esempio, cellule eosinofile mononucleate, vicine fra di loro.

In alcuni punti dove l' infiltrazione è più abbondante si ha, per la comparsa di connettivo intercellulare, una specie di

organizzazione in sito degli elementi che la compongono, tale da avere l'aspetto di un vero tessuto midollare.

Del fegato furono pure ottenuti dei preparati dalla spremitura che vennero fissati e poi colorati.

Essi danno lo stesso reperto che troviamo nella milza, salvo che i normoblasti sono forse ancora più numerosi.

Le sezioni mostrano:

Il periepate normale; scarso connettivo interstiziale. I lobuli epatici sono quasi totalmente distrutti da un'abbondante infiltrazione cellulare; si intravede però ancora la loro struttura. Le cellule epatiche in parte si sono conservate normali e contengono un abbondante pigmento giallo, in parte sono atrofiche; altre finalmente sono andate completamente distrutte e non rimane che del tessuto amorfo al loro posto. In mezzo al parenchima si trova qualche zona emorragica accompagnata da necrosi e deposito di fibrina nel tessuto circostante. Sottili filamenti di fibrina si notano anche negli spazi intercellulari dell'infiltrato. Gli streptococchi, assai numerosi e riuniti per lo più ad accumuli, costituiscono dei veri infarti micotici. Quanto agli elementi dell'infiltrato si può ripetere ciò che si è detto per la milza. Vi sono normoblasti; grossi elementi mononucleati a protoplasma abbondante, alcuni contenenti granuli eosinofili; qualche leucocito polinucleato, qualche megacariocita, elementi globuliferi e pigmentiferi intorno alle zone emorragiche. Riguardo alla loro distribuzione si nota che, ora sono disposti ad aggruppamenti più o meno numerosi, ora sparsi fra le isole che rimangono del tessuto epatico integro, ora a vaste zone d'infiltrazione in cui gli elementi epatici sono atrofici o necrosati. Nei vasi sono contenuti in grande quantità; però non è sempre possibile distinguere se si tratti di vasi o di spazi intercellulari molto dilatati. In alcuni punti l'infiltrazione è così abbondante che il tessuto epatico necrosato prende l'aspetto di un reticolo a larghe maglie contenenti gli elementi dell'infiltrato.

È notevole il fatto che specialmente alla periferia dell'organo, proprio sotto la glissoniana, l'infiltrato cellulare che si trova stipato fra le isole di tessuto epatico rimasto integro,

ha subìto in parte o tende subire una vera organizzazione, vale a dire è circondato da sottile stroma intercellulare, riproducendo l'aspetto del midollo delle ossa. Anche qui, come nel midollo e nella milza, si vedono per lo più aggruppamenti di elementi della stessa varietà, per esempio, dà all'occhio il vedere sei o sette elementi eosinofili mononucleati e a nucleo prevalentemente intensamente colorato vicini fra di loro.

Gli altri organi presentano reperti meno caratteristici.

Le ghiandole linfatiche, di cui vennero fatti dei preparati per sezione, presentano i capillari sanguinei ed i seni linfatici assai dilatati e ripieni di elementi midollari, eccettuati i megacariociti. Si nota inoltre qualche mitosi, ma non è possibile stabilire se essa appartenga a globuli rossi o a quelli bianchi. Del resto la struttura delle ghiandole linfatiche non è per nulla alterata. Non si trovano streptococchi.

Lo stesso si può dire per il rene che non ha subìto modificazioni di struttura. In esso si nota però qualche focolaio micotico costituito da ammassi di streptococchi. I capillari sanguinei sono dilatati e contengono elementi midollari.

Nel cuore è ancor più accentuata la dilatazione dei capillari per l'accumulo di elementi midollari; questi si scorgono persino in mezzo ai fasci muscolari.

Finalmente il polmone presenta focolai di broncopneumonite con abbondante fibrina e diplococchi capsulati di *Fränckel*. L'essudato che riempie gli alveoli è costituito da leucociti polinucleati e da epitelio alveolare desquamato; mancano in esso gli elementi midollari che sono abbondanti invece nei capillari dilatati che circondano l'alveolo.

* * *

Il quadro anatomo-istologico sopra descritto ha certamente molta analogia con quello di una leucemia mielogena.

Che il sangue di una anemia splenica primitiva (come pare fosse il caso in quistione) pigli i caratteri o si trasformi (il che equivale) in quello di una leucemia, non è cosa impossibile.

Infatti in un caso di anemia splenica descritto da *Freund*,

l'esame del sangue mostrò un graduale ingresso in circolo di numerosi elementi mononucleati a granuli neutrofili (mielociti), i quali raggiunsero la percentuale di 24,6. Vi era pure un discreto numero di normoblasti; mancavano invece le forme eosinofile mononucleate ed erano scarsissime le mastzellen. Il numero dei mielociti diminuì col migliorare delle condizioni del malato, senza che intervenisse un'infezione intercorrente, come si osserva in casi di leucemia. L'aspetto del sangue aveva tanta somiglianza con quello di una leucemia mielogena, che *Freund* credette da principio di aver sorpreso una leucemia al suo inizio; e si può quindi supporre che se il processo morboso invece di regredire fosse progredito, si avrebbero avuti tutti i caratteri di una leucemia mielogena.

Non si può dunque escludere che il medesimo fatto si sia avverato nel caso che ho descritto.

Qui però è bene ricordare che in molte circostanze diverse si ha un'emigrazione in circolo di elementi midollari, senza che si tratti di una leucemia mielogena. Senza ricordare l'« anæmia pseudoleucæmica infantium » di *Jacksch* e qualche caso di leucemia linfatica acuta, come quello descritto da *Bloch* e *Hirschfeld*, in cui si possono trovare nel sangue mielociti in discreta quantità, è noto che il loro ingresso in circolo si verificò in casi di difterite dei bambini e nella pneumonite nel periodo della crisi. Si trovarono inoltre numerosi in un caso di linfosarcoma con metastasi di midollo osseo descritto da *Reinbach; Lazarus* li trovò in discreta quantità in gravi anemie postemorragiche; *Elze* in un bambino di 15 mesi che soffriva di scrofolosi torpida; *Bech* li notò in un caso di grave avvelenamento mercuriale da medicamento. *Leube* ha recentemente descritto un caso in cui, accanto a normoblasti e megaloblasti e numerosi linfociti trovò il 14 % di mielociti, e che egli spiega come l'effetto di un'affezione del midollo osseo probabilmente d'origine infettiva. Finalmente l'ingresso in circolo di elementi midollari fu dimostrato al tavolo anatomico dal prof. *Foà* in un caso, in cui numerosi megacariociti avevano ostruito a guisa di emboli i capillari del polmone. Ma ciò che più importa è che tale

emigrazione di elementi midollari in circolo si è potuta ottenere anche sperimentalmente. Il prof. *Foà* iniettando nel peritoneo di una cavia sangue defibrinato di coniglio insieme ad estratto di capsule soprarenali di vitello, ottenne un ingresso in circolo così imponente di elementi midollari, che esaminata la milza si trovò che i capillari sanguinei erano gremiti da grossi ammassi di megacariociti.

Si deve dunque ammettere che oltre all'agente specifico (sconosciuto) della leucemia mielogena, esistano numerose altre cause settiche o tossiche che in determinate circostanze possono agire sul midollo osseo in modo da permettere un ingresso in circolo di elementi midollari, che *Lengemann* con una parola assai felice, chiamò « mielochinesi ».

Ritornando al caso in quistione, oltre alla possibilità di un passaggio da un'anemia splenica ad una leucemia mielogena, stanno per quest'ultima quei dati, che secondo *Ehrlich-Lazarus* servono appunto a distinguere, per mezzo del reperto del sangue, questa forma morbosa da quei casi, sopra citati, in cui abbiamo una semplice mielochinesi, e che si possono riassumere nei seguenti caratteri: 1° Un considerevole aumento assoluto dei leucociti, che interessa tutte le varietà di questi. 2° Una notevole percentuale di mielociti. 3° La presenza di normoblasti.

Si può dunque concludere che tale passaggio da un'anemia splenica ad una leucemia mielogena sia realmente avvenuto, come è dimostrato dal decorso della malattia e dal reperto anatomo-istologico sopra descritto.

Un fatto che merita di essere notato è che il midollo delle ossa nel caso attuale era scarso, di colore roseo, rinchiuso in cavità midollare ristretta; però all'esame istologico dimostrava una enorme quantità di eritrociti e di normoblasti i quali erano gli elementi di gran lunga prevalenti su tutti gli altri. Ciò fa pensare a quanto avviene nella leucemia linfatica acuta, in cui, per il rapido emigrare dei linfociti nel sangue, non è più possibile il loro depositarsi intorno ai centri germinali e ne viene quindi che l'ingrossamento delle ghiandole linfatiche e degli organi linfatici è piuttosto scarso.

Il deposito di elementi midollari in casi di leucemia mielogena è un fatto che si verifica frequentemente nella milza e nelle ghiandole linfatiche; meno frequentemente lo si riscontra nel fegato, che a differenza della leucemia linfatica, in cui si trovano nodi linfatici nel parenchima epatico, non presenta per lo più gravi alterazioni, se si esclude un'iniezione piuttosto ricca di elementi midollari nei capillari sanguinei. Esaminando però un gran numero di fegati leucemici *Martin B. Schmidt* dice d'aver trovato un reperto diverso da quello che si osserva comunemente, che egli descrive minutamente e che corrisponde a quello che io ho descritto nel caso in questione, in cui la leucemia sarebbe secondaria ad una anemia splenica. (L'autore non dice se si trattasse di leucemia linfatica o di leucemia mielogena; però siccome la prima ha la sua catteristica nei nodi linfatici sparsi per il parenchima epatico, ritengo che si tratti piuttosto della seconda).

Riguardo al significato di questo deposito, *Dominici* per la milza e *Martin B. Schmidt* per il fegato e la milza emisero l'ipotesi che si tratti di un ritorno ad uno stato embrionale di questi organi.

*Dominici* avendo ottenuto, come già *Bizzozero* e *Salvioli*, sperimentalmente nel coniglio, in seguito a salassi ripetuti, un deposito abbondante di elementi midollari nella milza, dà spiegazione di questo fatto ammettendo che tali elementi provengano direttamente dagli elementi stessi della milza, che in circostanze speciali possono riprendere le loro proprietà ematopoietiche che avevano nella vita fetale. Senza voler discutere questa ipotesi di *Dominici* che, come quella del preteso ritorno degli organi allo stato embrionale, non è da tutti accolta, voglio solo far osservare che mentre *Dominici* considera come principale punto di partenza di questa « trasformazione mieloide » come la chiama lui, i corpuscoli malpighiani, questi, nel caso in quistione, erano quasi intieramente distrutti e sostituiti da connettivo povero di cellule.

*Martin B. Schmidt* paragonando il fegato e la milza leucemica al fegato e alla milza embrionale conclude anch'egli per

un ritorno embrionale di questi due organi, e sostiene che la produzione di elementi bianchi proviene, come nel feto, dall'endotelio dei vasi del fegato e della milza, e che gli elementi incolori si trasformano poi in rossi caricandosi d'emoglobina. Anche i megacariociti proverrebbero allo stesso modo dagli elementi dell'endotelio.

Questa ipotesi non è affatto necessaria per spiegare il caso in questione; tanto più che essa implica l'accettazione di quella, molto controversa, che in uno stadio della vita fetale i globuli bianchi si formino dalle cellule dell'endotelio; e che dai bianchi derivino poi i rossi assumendo l'emoglobina. Infatti l'esame dei varî organi, anche i meno interessati dal processo morboso, mostra che ovunque i vasi sono ripieni di elementi midollari. Bisogna pure ricordare, che la milza e il fegato essendo organi molto irrorati, sono naturalmente predisposti ad un deposito di elementi circolanti.

Inoltre dall'esame di più preparati si può seguire passo passo il loro depositarsi al di fuori dei vasi e il loro organizzarsi. Che se anche si volesse sostenere una moltiplicazione in sito degli elementi midollari, come farebbe supporre il trovare più elementi delle stessa varietà vicini fra di loro (per esempio, elementi mononucleati eosinofili) e l'atrofia che hanno subìto, specialmente nel fegato, le cellule del parenchima per la pressione dovuta all'infiltrato; questa si potrebbe accettare ammettendo che gli elementi provenienti dal midollo abbiano conservato la loro proprietà di moltiplicarsi anche al di fuori di esso.

A me sembra quindi che il fatto va spiegato come un semplice deposito di elementi circolanti nella milza e nel fegato, e successiva loro moltiplicazione in questi organi, senza che vi sia bisogno di ricorrere all'ipotesi di un ritorno di questi organi a uno stato embrionale.

Rimane ancora da spiegare il perchè di quell'aumento di normoblasti in circolo che si accentuò negli ultimi giorni della malattia e che trova riscontro nell'enorme numero di normoblasti trovati nei preparati per strisciamento di midollo, fegato e milza. Probabilmente si tratta di un fatto analogo a quanto

avviene durante il decorso di gravi anemie perniciose o postemorragiche, in cui il sangue è improvvisamente invaso da numerosi leucociti e da normoblasti e che venne chiamato « crisi di sangue » per il rapido insorgere e per la breve durata del fenomeno. Nel caso in questione lo stato leucemico del sangue non permise la dimostrazione della leucocitosi. Ma va notato il fatto che *Dominici* ottenne nel coniglio sperimentalmente l'ingresso temporaneo in circolo di numerosi normoblasti per mezzo di iniezioni endovenose di colture in brodo di bacterium coli. Non sarebbe quindi fuor di luogo porre come spiegazione di questo fatto l'ipotesi che la tossina dei numerosi streptococchi trovati diffusi nel sangue, abbia agito in modo analogo sul midollo osseo, provocando tale reazione.

In conclusione in questo caso, per cause non determinabili esattamente, si ebbe il passaggio da una anemia splenica ad una leucemia mielogena, con particolare partecipazione della milza e del fegato, che, grande, voluminoso, molle, presentava nelle amplissime reti capillari l'accumulo di grandi quantità di elementi midollari, così da sembrare un fegato embrionale. Mi è impossibile determinare se il movente ultimo dell'affezione sia dovuto ad assorbimento di sostanze dal tumore splenico preesistente, o se l'un fatto e l'altro dipendessero dalla stessa causa, o se l'infezione streptococcica sopraggiunta vi abbia avuto una parte notevole.

## Bibliografia.

1. Ehrlich u. Lazarus, Die Anaemie (I Abtheilung, Normale und pathologische Histologie des Blutes).
2. Ehrlich, Lazarus u. Pinkus, Leukaemie. Pseudoleukaemie. Haemoglobinaemie.
3. I. Sabrazès, Hematologie clinique. Leucocytose, leucemie et adémie. (Rapport. Extrait des Comptes-Rendus du Cinquième Congrès français de Mèdecine. Lille, 1899; Paris, Société d'éditions scientifiques, 1900).
4. G. Freund, Ein Fall von Anaemia splenica mit vielen einkernigen neutrophilen Leucocyten. (Berliner Klinische Wochenschrift, 1901, n. 13).

5. Reinbach, Ueber das Verhalten der Leucocyten bei malignen Tumoren. (Langenbeck's Archiv, 1893, Bd. 46), *citato da Ehrlich-Lazarus.*
6. Elze, Das Wesen der Rhachitis und Scrophulose und deren Bekämpfung. Berlin, 1897, *citato da Ehrlich-Lazarus.*
7. Beck, Ueber Quecksilber-Exantheme. (Charité-Annalen, Bd. 20), *citato da Ehrlich-Lazarus.*
8. Leube, Anaemie mit gleichzeitiger leukaemischer Veränderung des Blutbildes. (Münchener med. Wochenschrift, 1900, n. 32).
9. Dr. P. Lengemann, Knochenmarkveränderungen als Grundlage von Leukocytose und Riesenkernverschlefpungen (Myelokinese). (Beiträge zur pathologischen Anatomie und zur allgemeinen Pathologie. Ziegler, 1901).
10. Dr. Martin B. Schmidt, Ueber Blutzellenbildung in Leber und Milz unter normalen und pathologischen Verhältnissen. (Beiträge zur pathologischen Anatomie und zur allgemeinen Pathologie. Ziegler, 1892, vol. XI).
11. M. Dominici, Sur l'istologie de la rate à l'état normal et pathologique. (Archives de médecine experimentale et d'anatomie patologique. Gennaio, 1901, n. 1).
12. M. Dominici, Considerations sur les leucémies. (Comptes-Rendus de la société de biologie, 1900, n. 3).
13. M. Dominici, Tuberculose experimentale. Transformation myeloide de la rate. (Comptes-Rendus de la société de biologie, 1900, n. 31).
14. M. Dominici, Sur la transformation myeloide. (Comptes-Rendus de la société de biologie, 1900, n. 34).
15. M. Dominici, Sur la réaction myeloide. (Presse médicale, 1901, n. 18).
16. V. Noorden, Untersuchungen über schwere Anaemie. (Charité-Annalen, 1891, Bd. 16).
17. M. Dominici, Septicémie experimentale à globules rouges nuclées. (Société anatomique, 1896, 31 ottobre).

Istituto di Clinica Chirurgica della R. Università di Cagliari.

# SUI POTERI ANTITOSSICI DELLA GLANDULA TIROIDE

## RICERCHE SPERIMENTALI

DEL

**PROF. VITTORIO REMEDI.**

Non ostante che la letteratura sia oltremodo ricca per quello che riguarda la glandula tiroide, il fatto più accertato è l'importanza che ha quest' organo, ormai dimostrato come una vera glandula a secrezione interna, importanza che è dimostrata da numerosi fatti clinici ed esperimenti. (Estirpazione, innesti, inoculazione di estratti).

Si conoscono pure completamente le modalità colle quali gli epiteli adempiono alla loro funzione, le vie di penetrazione del secreto specifico della tiroide nelle vie linfatiche glandulari nelle quali il secreto, mescolandosi colla linfa, viene diluito e passa poi nel torrente circolatorio. (Vedere a questo proposito le ricerche di *Vassale* (1), *Biondi* (2), quelle speciali sulla secrezione del *Galeotti* (3), e quelle del *Livini* (4) sui linfatici della tiroide).

Con serio fondamento si attribuisce (contrariamente alle vecchie dottrine) ai suoi prodotti di secrezione una azione antitossica su di alcuni materiali tossici per l'organismo, producendo o la loro distruzione, o rendendoli meno nocivi e più facilmente eliminabili. Questi materiali tossici sembra che siano prodotti catabolici dei tessuti, e provenienti più che altro dal metabolismo muscolare (Ricerche di *Vassale* e *Rossi*) (5).

Secondo un'ipotesi di *Von F. Blum* (6) avverrebbe nell'interno della glandula tiroide un processo di jodizzazione, una combinazione cioè di toxalbumine coll'jodio, ed in questo modo non si produrrebbe l'avvelenamento del corpo, e se ne avrebbe con più facilità la eliminazione.

La presenza nel sangue di questi prodotti tossici del ricambio costituirebbe lo stimolo normale per l'attività secretoria della tiroide, un aumento di tale stimolo provocherebbe una esagerazione nella funzione secretoria della tiroide e spesso anche una ipertrofia dell'organo.

Queste conclusioni già formulate da molti autori che si erano occupati di studiare la etiologia del gozzo e le alterazioni del ricambio in questa affezione, sono confermate da esperienze sugli animali, perchè si è visto, che basta iniettare nel sangue alcuni prodotti del ricambio, e specialmente le sostanze che rappresentano il resultato delle decomposizioni degli albuminoidi (amido-acidi, basi allosuriche) per vedere aumentati i processi secretivi della tiroide.

Questi prodotti tossici, per le successive disgregazioni prodotte in essi dalle sostanze secrete dalle cellule tiroidee, resi meno tossici e più facilmente eliminabili, si suppone che vengano regolarmente eliminati per le vie renali: mancando la funzione della tiroide, questi prodotti tossici si accumulerebbero nel sangue per rallentata o alterata funzione secretoria degli epiteli renali. Il secreto tiroideo possederebbe quindi (*Luciani*) un'azione fisiologica regolatrice della secrezione degli epiteli renali: oppure non avendo subito l'azione del secreto delle cellule tiroidee, i prodotti tossici lederebbero notevolmente la funzionalità delle cellule renali, e mancando per questo la loro eliminazione ne verrebbe l'accumulo nel sangue.

Queste ipotesi si basano quasi esclusivamente sulle alterazioni renali che assai frequentemente si osservano nei casi di lesione dell'intera tiroide, o nelle varie fasi di cachessia strumipriva e che sono state dimostrate anche coll'esperimento. *F. Blum* infatti, su 46 cani morti dopo la estirpazione della tiroide, avrebbe in 36 riscontrato lesioni renali più o meno gravi, e che esso attribuisce ad una auto-intossicazione dell'organi-

smo, che avviene in seguito alla ablazione dell' organo incaricato specialmente di disintossicare l' organismo.

Conosciuto questo potere antitossico della glandula tiroide, era naturale l' ammettere che esso non si esercitasse solo sulle sostanze tossiche provenienti dal normale funzionamento dell' organismo, ma che dovesse avere la tiroide pure un'azione importante nella neutralizzazione e distruzione dei veleni microbici introdotti nell' organismo.

Già nel 1892, *Brieger*, *Kitasato* e *Wassermann* (7) avevano emesso l' ipotesi che nell' organismo vi sono organi speciali, destinati a produrre sostanze immunizzanti; fra questi era specialmente il timo, la cui sostanza cellulare, secondo questi autori, aveva una notevole azione antitossica.

Identica ipotesi fu emessa per il corpo tiroide da *Tavel* nel 1893, e gli esperimenti da lui praticati sui conigli dimostrarono che negli animali ai quali era stata tolta la tiroide, le infezioni artificiali decorrevano più gravi, che in quelli normali che servivano da controllo. Rimaneva però sempre il dubbio se si trattava di influenza diretta dovuta alla mancanza della tiroide, oppure soltanto di un indebolimento generale dell' organismo.

Se non si vuole ammettere questa azione diretta della tiroide sui veleni batterici, si può però sempre supporre che i prodotti del ricambio materiale dell' organismo neutralizzati normalmente dalla glandula tiroide, sotto l' influenza di malattie infettive aumentino in tale quantità da fare aumentare abnormemente l' attività della glandula tiroide.

Questa seconda ipotesi trova la sua conferma negli esperimenti di *Galeotti* (1896), che dimostrò come la iniezione di sostanze azotate, che sono da considerarsi come prodotti tossici del ricambio materiale o della putrefazione, è capace di portare gli epiteli della tiroide ad una secrezione più forte che in condizioni normali. « I prodotti del ricambio, conclude, sono verosimilmente gli stimoli abituali che conservano la tiroide in uno stato di attività funzionale moderata; se cresce nella corrente sanguigna la quantità di queste sostanze, aumentano anche i processi di secrezione e forse esiste dentro

certi limiti un certo rapporto fra i due, non ancora però stato dimostrato ».

Fino a questi ultimi tempi non si è studiato che poco il modo di comportarsi della tiroide nelle malattie infettive sia acute che croniche, e si hanno nella letteratura a questo proposito i lavori di *Honsell*, (8) *Roger* e *Garnier* (9), *Nattan-Larrier* (10), *Torri* (11), *Sadaichi*, *Kashiwamura* (12), ed i cui resultati non sono troppo fra loro concordanti.

*Roger* e *Garnier* per i primi si occuparono dell'argomento, e in un primo studio fatto sulla tiroide degli individui morti per tubercolosi, trovarono la sclerosi del connettivo, peri-arterite, endo-arterite e proliferazione dell'epitelio. Sperimentando sugli animali col bacillo del tifo, trovarono nei casi acuti, oltrechè la stasi e qualche piccolo focolaio emorragico, un certo grado di alterazione delle cellule, e nei casi cronici, sclerosi della tiroide, e scomparsa di una gran parte di follicoli. In un nuovo lavoro sull'argomento questi autori da uno studio anatomo-patologico fatto su 33 tiroidi di morti per scarlattina, rosolia, difterite, tifo, meningite cerebro-spinale, vaiuolo, peritonite purulenta, hanno concluso che la prima alterazione che si verifica è una ipersecrezione glandulare, e quindi la sostanza colloide si modifica, diviene atipica, perchè non si colora più bene colle sostanze coloranti, oppure si presenta granulosa ed i granuli hanno forma poligonale, sono assai voluminosi, brunastri, e non si colorano più colle sostanze coloranti. In certi casi hanno trovato arresto della secrezione ed i follicoli ripieni di cellule glandolari, chiare, incapaci al lavoro glandulare che si erano distaccate dalla parete del follicolo. Nel connettivo non hanno mai trovato alterazioni apprezzabili, nei vasi sanguigni invece spesso arterite e flebite. Secondo questi autori quindi, dopo un periodo di attività, si avrebbe una diminuzione nella attività secretoria della glandola. Da esperimenti poi fatti sugli animali, per meglio studiare il meccanismo delle lesioni che nel corso delle malattie infettive si verificano nella glandula, essi hanno concluso: che nelle infezioni generali provocate negli animali con culture di stafilococchi, bacillo del tifo, carbonchio, non si hanno nella

tiroide lesioni apprezzabili, solo colla infezione generale da streptococco hanno trovato ipersecrezione e modificazioni assai analoghe a quelle osservate nell'uomo. Colla tossina difterica trovarono nelle cavie e nei conigli ipersecrezione della sostanza colloide, che conservava però i suoi caratteri normali, perchè forse la evoluzione della infezione era stata troppo rapida, per cui la secrezione glandulare non aveva avuto il tempo di modificarsi. Colla tossina tetanica pure osservarono ipersecrezione di sostanza colloide, ed in un solo caso, nel quale la evoluzione fu lenta, questa si colorava male colle sostanze coloranti, ed aveva un' apparenza granulosa.

Volendo poi precisare meglio l'azione degli agenti patogeni, iniettarono il liquido virulento nella carotide a livello della origine della tiroidea media, e legarono prima la carotide sopra il punto di origine di questa. Notarono che per l'arrivo di una gran quantità di microrganismi nei vasi dell'organo si hanno lesioni assai profonde ed estese, si ha cioè nei vasi arteriosi endo- e periarterite, formazione di trombi, e qua e là emorragie intraparenchimatose, ed una vera tiroidite parenchimatosa con arresto della secrezione, mentre le cellule epiteliali presentano rigonfiamento torbido. L'infezione violenta della glandula produrrebbe quindi una degenerazione diffusa, e non permetterebbe alle reazioni organiche di prodursi.

*Torri* in un diligente lavoro pubblicato nel 1900, da osservazioni anatomo-patologiche fatte su 29 tiroidi nell'uomo, ha trovato che la tiroide aumenta la sua attività nelle malattie infettive. Nelle malattie infettive acute si ha forte ipersecrezione di sostanza colloide, poi passando questa nei linfatici, si ha proliferazione dell'epitelio, che riempie quei follicoli che hanno espulso la loro sostanza colloide. Tutto quello che ha riscontrato nell'uomo è stato pienamente confermato dagli esperimenti fatti sugli animali, dove ha pure notato nei primi periodi di malattia, ipersecrezione di sostanza colloide e proliferazione dell'epitelio, e negli stadi più avanzati semplice accenno a neoformazione di follicoli, e l'epitelio nuovo presentare gli stessi caratteri di quello della parete del follicolo. A differenza di *Roger* e *Garnier* non ha mai veduto follicoli sulla cui parete non esi-

stessero più cellule, e che queste, presentando un aspetto chiaro, fossero cadute nella cavità del follicolo, e mentre quelli, producendo l'infezione generale negli animali non avrebbero trovato alcun risentimento da parte della tiroide, *Torri* ha trovato che producendo l'infezione generale in un animale, si aumenta l'attività della sua tiroide, e che la sostanza colloide non è atipica, come la vogliono *Roger* e *Garnier*, ma invece perfettamente normale.

Le conclusioni formulate da *Torri* sono le seguenti:

1° Che si ha ipersecrezione di sostanza colloide nelle malattie infettive acute e croniche.

2° Che si ha forte proliferazione epiteliale nelle malattie acute e croniche.

3° Che si ha abbondante neoformazione di tessuto glandulare nelle malattie croniche e nelle acute, però a decorso prolungato.

4° Che difficilmente nella tiroide si riscontrano processi infiammatori interstiziali come ascessi, tubercoli ecc.

5° Che la sostanza colloide ha la proprietà di distruggere i microrganismi.

6° Che la proliferazione epiteliale e la ipersecrezione di sostanza colloide sono dovute al prodotto tossico delle infezioni, sia perchè questo si sia formato dalla distruzione dei microrganismi che avviene nella sostanza colloide, sia che questo pervenga alla tiroide per il torrente circolatorio.

*Sadaichi Kashiwamura* in uno studio istologico fatto sulla glandula tiroide di 55 individui di età differente, dei quali soli 38 erano morti di malattie infettive, non ha potuto confermare le ricerche pubblicate da *Roger* e *Garnier* e *Torri*. Esso per i suoi resultati nega qualsiasi influenza specifica delle malattie d'infezione sul connettivo della tiroide, sulla presenza, quantità e qualità della sostanza colloide negli alveoli, e sulla sostanza glandulare stessa. Combatte quindi l'ipotesi di *Roger*, *Garnier* e *Torri* che il reperto di numerosi follicoli ripieni di epitelio, e grossi cordoni epiteliali nella tiroide siano specifici per le malattie infettive.

Data quindi questa differenza di conclusioni, diveniva in-

teressante lo studio dei processi di secrezione della tiroide, sotto l'azione dei prodotti tossici delle infezioni, dal punto di vista citologico, studiando cioè le fini alterazioni che si verificano nel nucleo, e nel protoplasma degli epiteli follicolari.

Il *Galeotti* nelle sue ricerche sopra i fenomeni di secrezione nelle cellule epiteliali della tiroide, colorando con un metodo speciale (soluzione soprasatura di fucsina acida in acqua di anilina, acido picrico, verde di metile) i pezzi fissati nel liquido di *Flemming*, ha fatto rilevare come il citoplasma ed il carioplasma degli epiteli follicolari si colorano in grigio verdastro col verde di metile: la nucleina, la membrana cromatica del nucleo, in rosso con la fucsina: e che tra gli elementi transitori, la cui presenza sta in rapporto colla attività funzionale delle cellule, si trovano alcuni granuli sufficientemente piccoli che si colorano colla fucsina, ed altri grossi granuli che si colorano fortemente in verde. Così pure si vede colorarsi in verde la sostanza colloide che riempie i follicoli. Questi granuli che si comportano differentemente di fronte ai mezzi coloranti (fucsina, verde di metile) stanno a dimostrare che entro le cellule epiteliali della tiroide avviene la separazione di due sostanze differenti, per due meccanismi differenti.

L'una sostanza è prodotta collo stesso meccanismo con il quale si presentano i fenomeni di secrezione nelle cellule delle glandule producenti enzima: questi sono i granuli fucsinofili la cui origine è endonucleare, e che s'ingrossano durante il passaggio traverso il citoplasma, e si scaricano nella cavità glandulare senza perdere la loro colorabilità colla fucsina. L'altra sostanza, si forma nel citoplasma in forma di gocce jaline di differente grandezza, che appariscono fortemente colorate in verde, e che uscite fuori dalla cellula finiscono col fondersi con i granuli fucsinofili per formare quel secreto di natura sconosciuta ancora, che ha il nome di sostanza colloide.

In questa mia prima serie di esperienze io mi sono servito come materiale d'iniezione nella tiroide, sia dei prodotti della attività trasformatrice dei batteri (tossine), sia dei materiali costituenti normalmente la cellula batterica (nucleopro-

teici). Ho preferito per il momento l'iniezione di questi, perchè appunto una lunga serie di esperienze fatte con molti microbi hanno dimostrato, che tanto le sostanze chimiche prodotte dai batteri stessi, quanto quelle contenute nelle cellule batteriche sono capaci di determinare processi patologici.

Le tossine, prodotte dal ricambio materiale dei vari batteri, è dimostrato che iniettate nei tessuti, provocano infiammazione e suppurazione, esercitando da una parte sulle cellule mobili una azione di chemiotassi positiva, e dall'altra processi degenerativi necrotici cellulari, specialmente su quelle epiteliali di molti organi parenchimali (rene, fegato ecc.).

I nucleo proteidi sono stati studiati nella loro azione specialmente dal *Galeotti* (13), che dimostrò esservi somiglianza di azione, e solo differenza nella intensità di questa, tanto nei nucleoproteidi di origine animale, che in quelli di origine batterica, e che gli uni e gli altri mostrano analoghe proprietà chimiche e fisiologiche. Ambedue sono capaci di esercitare sui leucociti una eccitazione motoria considerevole (chemiotassi positiva), ed inoltre essi esercitano considerevoli influenze sopra i protoplasmi cellulari, il cui resultato è vario a seconda della specie delle cellule che le subiscono. Alcuni elementi di origine mesenchimale rispondono al contatto di questi nucleoproteidi con fenomeni di eccitazione, mentre gli elementi epiteliali degli organi parenchimali rimangono invece intossicati, e quindi perdono le loro funzioni specifiche e vanno incontro a processi degenerativi; eserciterebbero quindi secondo *Galeotti*, sugli elementi epiteliali una funzione fermentativa, proteolitica e coagulante.

Dei nucleoproteidi io ho adoperato in questa prima serie di esperienze quelli del *prodigiosus* e del carbonchio, delle tossine quelle della difterite e del tetano.

Il metodo di estrazione dei nucleo-proteidi è stato quello usato da *Lustig* e *Galeotti* e che io qui riassumo.

Ho coltivato tanto il *prodigiosus* che il bacillo del carbonchio, del quale avevo prima constatato la virulenza, in grosse scatole di vetro del diametro di circa 25 centimetri,

nelle quali si trovava uno strato di agar dell'altezza di 5-6 millimetri. Dopo averle lasciate 24-48 ore nel termostato alla temperatura di 37 gradi, raschiavo le colonie, le quali si erano sviluppate alla superficie (mi assicuravo prima coll'esame della purità delle colonie ottenute) e ponevo quindi questa massa di cultura ottenuta col raschiamento in una soluzione di potassa caustica in acqua stillata e sterilizzata che aveva la proporzione di 0,75 °/₀. La cultura era lasciata in questa soluzione da 12-24 ore alla temperatura di 10-12 gradi. Filtravo quindi il liquido traverso carta da filtro coll'aiuto di una pompa ad aria aggiungendo acqua stillata e sterilizzata. Nel liquido così ottenuto coll'aggiunta di acido acetico, producevo un precipitato che rapidamente si depositava, e che ottenevo mediante nuova filtrazione del liquido. Lavavo questo precipitato ripetutamente sul filtro con acqua stillata e sterilizzata e scioglievo finalmente il deposito fioccoso e bianco che rimaneva sul filtro in una soluzione leggera di carbonato di soda (1 °/₀). Avevo allora il nucleo-proteide pronto per le mie esperienze.

Le tossine le ho ottenute per filtrazione traverso candela; quella della difterite da una cultura del bacillo in brodo glicerinato, in un pallone di vetro che ne conteneva 400 grammi. La cultura datava da tre settimane, e ne avevo sperimentato la virulenza sui conigli e sulle cavie. Essa era virulentissima e tale pure era la tossina ottenuta mediante filtrazione. La tossina tetanica l'ho ottenuta pure da filtrazione di vecchie culture anaerobiche di tetano in brodo glucosato, chiuse in tubi saldati, e della quale pure ho sperimentato la virulenza, sia della cultura, sia della tossina ottenuta colla filtrazione. Anche questa era virulentissima.

Come animale da esperimento ho scelto il cane, nel quale i lobi tiroidei sono in numero di due, per lo più indipendenti l'uno dall'altro, e ciascuno di essi situato lateralmente alla trachea, subito al disotto della cartilagine tiroide.

Con le solite cautele di asepsi ormai conosciute, con una incisione sulla linea mediana del collo della lunghezza di 8 centimetri, e che corrispondeva per due terzi al tratto situato

sotto la cartilagine tiroide, mettevo allo scoperto la superficie anteriore della trachea, scollavo quindi i muscoli dalla superficie laterale di questa, e mettevo così allo scoperto la superficie anteriore dei due lobi della tiroide, nei quali dovevo praticare l'iniezione, terminata la quale, chiudevo di nuovo la ferita con una accurata sutura dei vari strati.

Per portare il liquido da sperimentare a contatto degli elementi cellulari, ho usato le iniezioni parenchimali, avendo cura di spingere l'ago in diverse direzioni, onde ottenere una maggiore e più completa diffusione del liquido in tutto il parenchima glandulare.

Questo metodo può a prima vista sembrare poco esatto, perchè con esso, alle alterazioni realmente provocate dalle sostanze in esperimento, si univano quelle dipendenti dalle dilacerazioni e pressioni causate dal liquido iniettato. Ma tenuto conto della mancanza di canali escretori nella tiroide, non potevo per la via di questo portare il liquido a contatto delle cellule, ed avrei dovuto ricorrere al metodo seguìto nelle loro esperienze da *Roger*, *Garnier* e *Torri*, ed iniettare il liquido direttamente nelle carotidi. Mi pareva però che praticando l'iniezione di nucleoproteidi o delle tossine servendomi della carotide, le alterazioni che si verificavano nei vasi arteriosi potessero esser causa di errore, per giudicare delle alterazioni subite dalle cellule epiteliali. *Galeotti* infatti ha dimostrato che per effetto della iniezione dei nucleoproteidi si ha stasi sanguigna considerevole, dovuta sia a formazione di piccoli trombi che occludono vene ed arterie, sia a probabile paralisi delle tuniche muscolari. I vasi sono ripieni di sangue e dilatati, e si hanno pure emorragie interstiziali ed infiltrazioni considerevolissime di corpuscoli rossi e bianchi, dipendenti da queste alterazioni circolatorie alle quali si unisce sempre una lesione degli endoteli dei capillari.

Per evitare possibili alterazioni dovute alla pressione esercitata dal liquido iniettato, ho cercato, spingendo l'ago in diverse direzioni, di diffondere il liquido il più che fosse possibile nell'intera glandula, facendolo uscire dall'ago stesso a gocce, ed ho procurato che questo fosse il più sottile possi-

bile. Se quindi il metodo da me tenuto non è scevro di obiezioni, tuttavia la dilacerazioni prodotte nella glandula erano minime, tantochè non se ne trovava traccia all'esame istologico, quantunque io abbia fatto di ogni glandula numerose sezioni; aveva di più il vantaggio di fare osservare come reagivano gli elementi connettivali interfollicolari, e gli elementi epiteliali dei follicoli.

Prima di parlare degli esperimenti da me fatti credo opportuno dire poche parole sulla struttura normale della tiroide del cane. Essa è circondata da una capsula di tessuto connettivo che si continua con quello che divide la glandula in lobuli. Il connettivo interlobulare è spesso, mentre si riduce ad una sottile stria di tessuto connettivo quando doventa interfollicolare. Molti follicoli contengono sostanza colloide, e tra questi se'ne vedono dei più piccoli pieni completamente di epitelio, che sono sempre però in numero maggiore di quelli contenenti sostanza colloide. Per quello che riguarda i fenomeni secretori, questi li ho notati solo nelle cellule dei follicoli contenenti sostanza colloide ma non tutti gli elementi cellulari di questo si trovano in uguale attività, tantochè in uno stesso follicolo si osservano alcuni in attività secretoria, altri in stato di riposo. Al disotto della capsula della tiroide ed al suo margine esterno si nota la presenza della paratiroide costituita da tubi epiteliali pieni.

I metodi istologici da me seguìti per esaminare la tiroide furono:

1° Fissazione in sublimato e colorazione con ematossilina ed eosina, ematossilina ed orange, emallume, tionina;

2° Fissazione in liquido di *Flemming*, colorazione con soluzione soprasatura di fucsina acida in acqua satura di olio di anilina, acido picrico e verde di metile;

3° Metodo di *Weigert* per la ricerca della fibrina.

PRIMA SERIE. — *Iniezione di nucleoproteidi del Bacillo prodigiosus.*

**Esperimento I.** — In ciascun lobo della tiroide di un cane e seguendo il metodo sopradescritto inietto mezzo centimetro cubo di nucleo-proteidi. La tiroide in seguito alla iniezione aumentò di volume. Uccido l'animale 48 ore dopo l'iniezione.

*Aspetto macroscopico.* — Nessun aumento di volume, colorazione giallastra uniforme come è naturalmente. Nessun segno al taglio di emorragie interstiziali.

*Esame istologico.* — Nessuna alterazione nel tessuto connettivo, in nessun punto si notano infiltramenti di cellule rotonde o focolai emorragici. Nessuna alterazione vasale se si eccettua che le arterie e le vene, quest'ultime specialmente, sono dilatate e riempite di globuli rossi. Anche i capillari appariscono pure qua e là dilatati e ripieni di globuli rossi. Si ha invece una notevole ipersecrezione di sostanza colloide, che riempie e distende non solo una gran quantità di follicoli, che sono modificati nella loro forma e dimensioni, ma che si trova qua e là pure negli spazi linfatici perifollicolari della glandula.

Questa sostanza colloide presenta un aspetto omogeneo, e si colora intensamente in verde nei preparati fissati col *Flèmming* e coloriti nel modo sopra indicato, solo qua e là in alcuni follicoli si vedono in mezzo alla massa colloide di colore verde, dei nuclei sformati coloriti intensamente ed uniformente in rosso colla fucsina, residuo di cellule epiteliali cadute in disfacimento. In alcuni follicoli si nota come in qualche punto le cellule non siano più appoggiate regolarmente contro la membrana connettivale propria dei follicoli, esse sono sollevate verso l'interno della cavità, e s'ingranano nella materia colloide, presentano un protoplasma chiaro, ed il loro nucleo si colora male, e presenta spesso contorni irregolari. Tutte le cellule invece che appariscono normali sia per la loro forma e posizione, che per il modo di comportarsi cogli agenti coloranti, si trovano in attività secretoria. Abbondantissimi nel citoplasma si trovano dei granuli fortemente coloriti in verde, e specialmente tale abbondanza si rileva in paragone colle sezioni di tiroide normale, mentre tale maggiore abbondanza non si rileva per quello che riguarda la secrezione dei granuli fucsinofili da parte del carioplasma.

Altro fatto importante si è che nessun segno di vacuolizzazione si nota nel citoplasma. Nessun segno di proliferazione cellulare, nè negli epiteli, nè negli elementi connettivali. In nessun punto si nota la presenza di fibrina. Nessuna alterazione nella paratiroide.

**Esperimento II.** — Iniezione in ciascun lobo della tiroide di 1 centimetro cubo di nucleo-proteidi di *prodigiosus*. L'animale viene ucciso in quarta giornata.

*Esame istologico.* — Anche qui il fatto predominante è un abbondante ipersecrezione di sostanza colloide che si osserva pure qua e là nei linfatici. Nessun accenno a proliferazione degli epiteli o delle cellule connettivali, mancanza completa d'infiltrazione leucocitaria e di focolai emorragici. Diminuita la dilatazione vascolare.

**Esperimento III.** — Iniezione in ciascun lobo della tiroide di un cane grosso, di 2 centimetri cubi di nucleo-proteidi di *prodigiosus*. L'animale viene ucciso in sesta giornata.

*Esame istologico.* — Ipersecrezione di sostanza colloide, non si osserva però che in piccola quantità nei linfatici. Identici fenomeni di secrezione nelle cellule epiteliali. Nessuna proliferazione epiteliale. Nulla di anormale da parte dei vasi sanguigni e del connettivo.

SECONDA SERIE. — *Iniezione di nucleo-proteidi del carbonchio. Contenuto percentuale di nucleo-proteidi della soluzione usata per iniezione,* 0,0610 %.

**Esperienza I.** — Iniezione in ciascun lobo della tiroide di 1 centimetro cubo della suddetta soluzione di nucleo-proteidi. L'animale è ucciso dopo 48 ore.

*Aspetto macroscopico.* — Nessun aumento di volume, la tiroide sembra al taglio completamente normale, nessun segno di emorragia.

*Esame istologico.* — Niente di anormale e di notevole da parte del connettivo. Stasi dei vasi sanguigni. Straordinaria formazione di sostanza colloide, molta della quale si trova pure nei linfatici.

Quasi tutti i follicoli contengono sostanza colloide, solo alcuni sono iperdistesi, altri ne contengono una quantità moderata, altri solo una piccola parte nel centro. Gli elementi cellulari si presentano con dei caratteri qualche poco differenti a seconda dei follicoli. Nei più grandi e distesi le cellule sono appiattite e formate da un sottile strato di protoplasma contenente il nucleo, nei piccoli al contrario prendono una forma cilindrica, tra questi due tipi esistono tutte le forme intermedie. In alcuni follicoli il centro è occupato da cellule in via di disfacimento che si mescolano colla sostanza colloide.

In qualche follicolo iperdisteso si nota pure distacco del rivestimento epiteliale, ed in mezzo alla massa colloide che lo riempie, nuclei raggrinzati e picnotici. Intenso è il processo di secrezione delle cellule epiteliali, e specialmente abbondantissimi sono i granuli verdastri che si trovano nel citoplasma, mentre non sembra sia aumentata la secrezione dei granuli fucsinofili per parte del carioplasma. Nei preparati alla *Weigert* manca ogni reperto di fibrina. Nessun segno di proliferazione epiteliale. Nella paratiroide si hanno intensi i fatti di secrezione dei granuli fucsinofili per parte del carioplasma, i quali traversano il citoplasma conservando inalterata la loro intensità di colorazione.

**Esperienza II.** — Iniezione parenchimale in ciascun lobo della tiroide di 2 centimetri cubi di nucleo-proteidi. Ucciso dopo 48 ore.

*Esame istologico.* — Le alterazioni istologiche che si notano sono uguali a quelle sopradescritte, nè vale la pena di ripeterle; soltanto debbo notare che solo nella spessa capsula di tessuto connettivo che circonda la tiroide si ha infiltrazione di leucociti, e qua e là stravasi di corpuscoli rossi.

**Esperienza III.** — Iniezione parenchimale per ciascun lobo tiroideo di 1 centimetro cubo e mezzo della solita soluzione di nucleo-proteidi. Ucciso in quarta giornata.

**Esperienza IV.** — Iniezione di 1 centimetro cubo di nucleo-proteidi in ciascun lobo tiroideo. Ucciso in quinta giornata.

**Esperienza V.** — Iniezione di 1 centimetro cubo di nucleo-proteidi. Ucciso in settima giornata.

*Esame istologico.* — Le alterazioni istologiche notate nelle esperienze 3, 4, 5, sono identiche a quelle riscontrate nell'esperienza numero 1, solo sono diminuiti i fenomeni di secrezione. Questa differenza è specialmente manifesta paragonando le sezioni delle tiroidi di queste ultime esperienze, con quelle del numero 1 e 2. Interessante è ancora il fatto che nelle sezioni del numero 5 non vi è nessun segno o accenno di proliferazione epiteliale o connettivale.

TERZA SERIE. — *Esperienze colla tossina difterica.*

**Esperienza I.** — Iniezione parenchimale in ciascun lobo della tiroide di 2 centimetri cubi di tossina. L'animale muore in seconda giornata. Non ha più mangiato dal momento della iniezione.

All'autopsia, infiltrazione edematosa diffusa a tutto il collo che si è tumefatto fino dalla prima giornata. (Debbo far notare che per imperfetto funzionamento della cannula adoperata, del liquido si versò nel tessuto cellulare del collo). Tiroidi circondate da essudato emorragico di colore rosso-scuro.

*Esame istologico.* — All'esame istologico si osservano fatti estesi di necrosi cellulare consistenti in distacco degli epiteli, fusione di questi colla sostanza colloide dei follicoli, picnosi dei nuclei.

**Esperienza II.** — Iniezione parenchimale in ciascun lobo della tiroide di 2 centimetri cubi di tossina difterica. L'animale è ucciso al terzo giorno, non ha più mangiato dopo l'iniezione.

All'autopsia notasi infiltrazione edematosa alla periferia delle tiroidi, che si riesce solo a riconoscere con una certa difficoltà.

*Esame istologico.* — Nessuna infiltrazione cellulare nel connettivo interstiziale. Stasi nei vasi sanguigni. Aumento della sostanza colloide nei follicoli e nelle vie linfatiche. Rigonfiamento torbido esteso delle cellule epiteliali dei follicoli, fatti di necrosi cellulare qua e là dimostrati dalla presenza di nuclei picnotici. In molti follicoli si nota fusione degli elementi cellulari distaccatisi dalla parete colla sostanza colloide.

**Esperienza III.** — Iniezione parenchimale in ciascun lobo della tiroide di 1 centimetro cubo di tossina difterica. Ucciso in quinta giornata.

*Aspetto macroscopico.* — Normale.

*Esame istologico.* — Nessuna infiltrazione leucocitaria. Nessun segno di cariocinesi. Alveoli distesi e ripieni di sostanza colloide. Aumento notevole dei fatti di secrezione cellulare. Mancano i granuli fucsinofili e si ha solo un aumento dei granuli verdastri. Qua e là segni di necrosi cellulare, caratterizzati dalla presenza in mezzo alla so-

stanza colloide di nuclei sformati e picnotici. Probabilmente i fatti di necrosi si sono verificati in quei punti nei quali la tossina è venuta direttamente a contatto cogli elementi cellulari.

**Esperienza IV.** — Iniezione parenchimale in ciascun lobo della tiroide di 1 centimetro cubo di tossina difterica. Ucciso in sesta giornata. Reperto istologico identico.

QUARTA SERIE. — *Esperienze colla tossina tetanica.*

**Esperienza I.** (Controllo). — Due grosse cavie. Iniezione sottocutanea nel dorso di $^1/_2$ centimetro cubo di tetano-tossina. Muoiono dopo 36-40 ore con fenomeni spiccati di tetano.

**Esperienza II.** (Controllo). — In un cane inietto sotto la cute del dorso 1 centimetro cubo di tetano tossina. Al terzo giorno accessi tetanici alla metà posteriore del tronco ed arti corrispondenti. Diminuzione di frequenza e d'intensità dei medesimi in quarta giornata, per scomparire del tutto. Ucciso in nona giornata.

*Esame istologico.* — Nulla di anormale nella tiroide, se si eccettua un leggero aumento di sostanza colloide nei follicoli ed aumento dei fenomeni secretori. Due fatti che resultano evidenti paragonando le sezioni di questa tiroide colle sezioni di tiroide sana.

**Esperienza III.** — Iniezione parenchimale in ciascun lobo della tiroide di $^1/_2$ centimetro cubo di tetano-tossina.

**Esperienza IV.** — Iniezione identica. Dopo l'iniezione nessun fenomeno morboso venne osservato, i due animali conservarono inalterata la loro vivacità. Si uccidono al nono giorno. Macroscopicamente le tiroidi sembrano normali.

*Reperto istologico.* — Nessuna infiltrazione leucocitaria nel connettivo. In nessuna sezione si osservano fatti di cariocinesi negli elementi epiteliali. Intensi invece sono i fatti di secrezione, in tutti i follicoli notasi la presenza di sostanza colloide, e la maggior parte di quelli sono iperdistesi. Abbondantissimi i granuli fucsinofili specialmente nel citoplasma, scarsi invece sembrano i granuli coloriti in verde.

Dalle ricerche sovraesposte risulta quindi che certi prodotti tossici di origine batterica, e specialmente i nucleoproteidi che si possono estrarre dal corpo di differenti microorganismi, esplicano una azione eccitante sulla funzionalità secretoria della glandula tiroide, in modo analogo a quello, che come abbiam visto in principio, fu osservato da *Hürthle* (14), *Farmaneck* u. *Häskowec* (15), *Galeotti*, dopo la iniezione di certi prodotti del ricambio materiale.

Dalle ricerche di questi autori risulta anche che nelle

cellule tiroidee si presentano due categorie di fatti secretori, i quali avvengono con diverse modalità, e per cui si ha la produzione di due sostanze di differente natura: di più fu anche dimostrato che certi prodotti tossici del ricambio son capaci di stimolare l'uno di questi processi secretori, altri l'altro. Analogamente nelle presenti esperienze abbiam visto che i nucleoproteidi batterici determinano una ipersecrezione della sostanza colloide, mediante la formazione di abbondanti e grossi granuli colorabili in verde, e di origine citoplasmatica. Al contrario i granuli fucsinofili a cui si deve attribuire una natura enzimatica, e che rappresentano un secondo prodotto di secrezione non apparvero aumentati in numero ed in volume, salvo che nelle paratiroidi del cane dell'Esperienza 2ª, Serie II, ove un tale aumento era evidente, e nelle tiroidi dei 2 cani nelle quali venne iniettata la tetano-tossina, dove i granuli fucsinofili apparivano solo aumentati notevolmente di numero, ma non di volume.

D'altra parte le ricerche di *Federici* (16), di *Galeotti*, e di altri hanno dimostrato che i nucleo-proteidi bacterici, di qualunque natura essi siano, esercitano sovra gli elementi nobili dei tessuti animali una considerevole azione necrotizzante, mentre nei connettivi si stabiliscono lesioni circolatorie, infiltrazioni emorragiche interstiziali, e specialmente infiltrazione leucocitaria, il quale ultimo fatto dipende dalla forte azione chemiotattica positiva che i nucleoproteidi in genere esercitano sui leucociti.

Invece nelle tiroidi che han subìto l'iniezione intraparenchimale di nucleo-proteidi batterici, come ho già esposto, non ho riscontrato nè fatti di necrosi cellulare, nè infiltrazioni leucocitarie. Noto tra parentesi che questa si è presentata nel connettivo paratiroideo, *al di fuori del tessuto tiroideo stesso*, nell'Esperienza 2ª, della II Serie, ove durante l'iniezione un po' del liquido contenente il nucleo-proteide si sparse nelle maglie del connettivo.

Mettendo ora in confronto questi due fatti, cioè ipersecrezione della tiroide, che segue sempre alla iniezione di nucleoproteidi, e la mancanza di fenomeni necrotici e d'infiltra-

zione leucocitaria, i quali sono una conseguenza costante delle iniezioni intraparenchimali di nucleo-proteidi, si potrebbe esprimere l'ipotesi, che le influenze deleterie dei nucleoproteidi bacterici fossero annullate per opera dei prodotti di secrezione tiroidea, e che la ipersecrezione di quest'organo avesse appunto per fine la neutralizzazione di queste sostanze tossiche: in altre parole si può pensare che i secreti tiroidei come son destinati a rendere innocui i prodotti tossici del ricambio, così siano pure capaci di neutralizzare queste altre sostanze tossiche di origine esogena che son venute accidentalmente in contatto colla tiroide stessa. Quindi il contatto dei nucleoproteidi bacterici con le cellule tiroidee, determinerebbe una sovraproduzione di sostanze antitossiche (ipersecrezione) in grazia delle quali le proprietà necrotizzanti e chemiotattiche di tali nucleo-proteidi non avrebbero più modo di esplicarsi. Questa ipotesi, che ora esprimo con le più grandi riserve, verrà da me sottoposta alla prova di altri esperimenti più diretti, i quali spero avranno un valore decisivo. Ciò infatti formerà l'argomento di un prossimo lavoro, che ho già cominciato.

Per riguardo alla tossina difterica iniettata in media quantità, ho analogamente osservato un aumento della attività secretoria della tiroide e la mancanza di fatti necrotici, che rappresentano invece la regola allorchè la tossina stessa viene in contatto cogli elementi di qualsiasi altro tessuto. Anche in questo caso si può quindi porre la ipotesi di una azione antagonistica tra tossina difterica e secreto tiroideo. Se però la tossina difterica viene iniettata in grandi quantità (Esperienza 1ª e 2ª, Serie III) allora il secreto tiroideo non potrebbe più bastare alla neutralizzazione della tossina, e l'azione necrotizzante di quest'ultima prevarrebbe.

Riguardo alla tossina tetanica ogni conclusione sarebbe a questo proposito prematura. Faccio solo osservare il fatto, che ripetendosi costante in ulteriori esperienze, sarebbe importante, cioè della nessuna comparsa di fenomeni tetanici nei due cani nei quali l'iniezione fu fatta nella tiroide, e della comparsa invece, sebbene non molto intensi e tali da non

portare la morte, nel cane nel quale identica quantità di tossina fu iniettata nel dorso. Anche qui ho pure osservato notevole aumento della attività secretoria della tiroide, mancanza di fatti necrotici, e come già sopra ho notato aumento notevole dei granuli facsinofili.

## Bibliografia.


1. VASSALE, Ulteriori esperienze intorno alla ghiandola tiroide. (Rivista sperimentale di psichiatria, 1892).
2. BIONDI, Contributo allo studio della tiroide. (Roma, 1892).
3. GALEOTTI, Ueber die Granulationen in den Zellen. (Internationale Monatsschrift f. Anat. u. Phys., 1895, vol. LII).
—— Beitrag zur Kenntniss der Sekretionserscheinungen in den Epithelzellen der Schilddrüse. (Arch. f. mikr. Anat., 1896).
4. LIVINI. (Sperimentale, anno LIV).
5. VASSALE e ROSSI. (Rivista sper. di Fren. e Med. legale, XIX, 1893).
6. VON F. BLUM, Die Schilddrüse als entgiftendes Organ. (Virchow's Archiv, Bd. CLVIII).
7. BRIEGER, KITASATO und WASSERMANN, Ueber Immunitat und Giftfestigung. (Zeitschr. f. Hygiene, Bd. XII, 1892, Heft 2).
8. HONSELL, De la thyréoïdite meta-pneumonique. (Semaine méd., 1898).
9. ROGER e GARNIER, La sclerose du corp thyréoïde chez les tuberculeux. (Soc. Biol., séance du 30 juillet 1898).
—— Infection thyréoïdienne expérimentale. (Soc. Biol., 10 octobre 1898).
—— La glande thyréoïde dans les maladies infectieuses. (Presse médicale, 1899).
10. NATTAN-LARIER, Lesions histologiques des viscères chez les nouveau-nés issus des tuberculeux. (Soc. Biol., 12 novembre 1898).
11. TORRI, La tiroide nei morbi infettivi. (Policlinico, 1900, n. 6, 8, 10).
12. SADAICHI KASHIWAMURA, Die Schilddrüse bei Infections Krankheiten. (Virchow's Arch., 1901, vol. CLXVI).
13. GALEOTTI, Azione dei nucleoproteidi sulle cellule e sui tessuti. (Sperimentale, anno LIV, fascicolo V).
14. HÜRTHLE, Beiträge zur Kenntniss der Sekretionsvorgänge in der Schilddrüse. (Pflüger's Arch., 1894, Bd. 56, S. 1).
15. FARMANECK u. HÄSKOWEC, Beitrag zur Lehre über die Funktion der Schilddrüse. (Wien, Holder, 1896).
16. FEDERICI, Sulla influenza che esercita la sostanza tossica estratta dai bacilli virulenti della peste sopra gli elementi cellulari di differenti organi. (Lo Sperimentale, 1898, fascicolo IV).

(Istituto d'Igiene diretto dal Prof. Giorgio Roster).

RICERCHE BATTERIOLOGICHE

# SUL BURRO DEL MERCATO DI FIRENZE.

## ALCUNI BACILLI PSEUDOTUBERCOLARI.

**DOTT. G. FOÀ**
Aiuto.

Le ricerche sulla frequenza del bacillo tubercolare nel burro, sono in Italia molto scarse. Non abbiamo infatti su questo soggetto che il lavoro del *Brusaferro* (3) nel 1890 sul burro di Torino, e sul burro di questa stessa città le poche ricerche del *Rondelli* (12) nel 1898; il lavoro del *Coggi* (23) sul burro di Milano nel 1899, e quello del *Ludovici* (43) sul burro di Napoli nel 1901.

Per di più, fra questi lavori, i due primi non possono avere che un valore assai relativo, poichè in quello del *Brusaferro* manca la prova culturale o l'innesto in altri animali, a conferma della diagnosi di tubercolosi; in quello del *Rondelli* (l'autore però avverte che continua le sue ricerche) sono riferiti i risultati delle esperienze fatte su soli 5 campioni.

Ora queste ricerche sul burro, sono di interesse grande anche per noi, sia pure che consumiamo questo alimento, soprattutto crudo, in quantità certamente inferiore ad altri paesi. Importanti soprattutto quando si considerino i risultati ottenuti dall' *Obermüller* (10), dalla *Rabinowitsch* (20) e da *Herr* e *Beninde* (42), risultati che dimostrano come un negozio possa fornire per lunghissimo periodo di tempo del burro altamente infetto, con percentuali cioè che vanno dall' 87. 5 % al 100 %.

Importanti anche perchè il bacillo tubercolare sembra possa conservare in questo mezzo la sua vitalità e la sua virulenza per un tempo molto lungo. Infatti se il *Laser* (5) trovò nel burro questo microrganismo ancora virulento dopo una settimana, e l' *Heim* (2) dopo 30 giorni, il *Gasperini* (4) lo trovò virulento ancora dopo 120 giorni, avendo infettato sia con culture di bacillo di Koch, sia con pus caseoso, il latte da cui il burro derivava.

Osserverò incidentalmente che anche da altri derivati del latte furono isolati bacilli della tubercolosi. *Hormann* e *Morgenroth* (13) e la *Rabinowitsch* (38) li trovarono nella giuncata; la *Rabinowitsch* anche nel *Kefir*. Come pure furono osservati nel burro artificiale dagli stessi autori; e del resto la possibilità di questo era già stata dimostrata da *Scala* e *Alessi* (1), che riconobbero come il bacillo tubercolare eventualmente contenuto nel grasso, possa resistere alle varie manipolazioni necessarie per estrarre la margarina.

Lasciando pure da parte il *Rondelli* che nei suoi cinque campioni non trovò mai il bacillo di Koch, questo microrganismo fu dai vari autori trovato nel burro in proporzioni molto diverse. Così il *Brusaferro* ebbe 1 campione infetto sui 9 da lui esaminati; mentre dalle ricerche del *Coggi* risulta per il burro di Milano una percentuale assai minore, poichè su 100 campioni esaminati solo 2 contenevano il bacillo tubercolare. Siccome 6 campioni erano andati persi, perchè le cavie con essi inoculate, erano tutte morte rapidamente per peritonite, così la percentuale fu fatta sui 94 campioni rimanenti, dando il 2.12 °/₀ di burro infetto. Risultati molto meno soddisfacenti ebbe invece il *Ludovici*, che a Napoli trovò infetto dal bacillo della tubercolosi il 21.9 °/₀ dei 41 campioni esaminati. Sarebbe però qui da osservare che l'autore include in questa percentuale anche 2 campioni, in cui ebbe risultato negativo inoculando in altre cavie pezzi d'organi alterati.

All'estero, e specialmente in Germania, dove queste ricerche sono state fatte su scala molto più vasta, esistono pure grandi differenze fra i vari sperimentatori, e anzi fra i risultati dello stesso sperimentatore in lavori diversi. E anche

senza prendere in considerazione la percentuale data dall' *Obermüller* (10), in un suo lavoro sul burro di Berlino, cioè del 100 °/₀, in quanto i 14 campioni esaminati da questo autore, derivavano, come egli stesso fa osservare, da una sola e identica sorgente, abbiamo pure, in quei ricercatori che adoprarono burro proveniente da negozi diversi, delle percentuali assai distanti fra loro. Così in Berlino stessa nel 1897, mentre la *Rabinowitsch* (8) su 30 campioni otteneva una percentuale dello 0 °/₀, il *Petri* (14) nello stesso anno su 100 campioni ne trovava infetti il 30 °/₀, e nel 1899 la *Rabinowitsch* (20) sempre iu Berlino, dall'esame di 15 campioni deduceva una percentuale del 13.33 °/₀ di burro infetto.

E per accennare ad alcuni altri risultati, ricorderò come il *Roth* (6) trovasse nel 1894 nel burro di Zurigo, una percentuale di burro infetto uguale al 10 °/₀, avendo esaminato 20 campioni. Lo *Schuchardt* (7) a Marburgo nel 1896, trovò un campione probabilmente infetto sui 28 campioni esaminati; nemmeno l'autore però afferma assolutamente la sua diagnosi, poichè l'animale inoculato non presentava alla necroscopia il quadro della tubercolosi addominale sperimentale, ma semplicemente lesioni polmonari. Nel 1897 oltre ai risultati già detti del *Petri* e della *Rabinowitsch*, abbiamo il lavoro della *Rabinowitsch* (8) stessa su 50 campioni del burro di Filadelfia, con una percentuale dello 0 °/₀; e quello del *Gröning* (9) ad Amburgo col 47.05 °/₀ di burro infetto, su 17 campioni. Nel 1898 *Hormann* e *Morgenroth* (15) trovano in Berlino il bacillo di *Koch* nel 30 °/₀ dei campioni (10 campioni), e in un'altra comunicazione dello stesso anno,(13) su 3 campioni di diversa origine, 1 conteneva bacilli tubercolari. Nel 1899 *Ascher* (21) a Königsberg ha una percentuale del 9.09 °/₀ esaminando 22 campioni, e la *Rabinowitsch* il già riferito risultato del suo secondo lavoro sul burro di Berlino; *Korn* (27) a Friburgo e *Weissenfeld* (26) a Bonn ottengono rispettivamente 4 campioni infetti su 20 il primo, e una percentuale del 9.36 °/₀ su 32 campioni, il secondo. Nel 1900 l' *Herbert* (32) non trova il bacillo tubercolare in 100 campioni di burro del Würtemburg, nè in 20 campioni di burro di Berlino, nè in 5 campioni di Monaco. E finalmente nel 1901

la *Tobler* (45) a Zurigo su 45 campioni ne ha 2 infetti, e *Herr* e *Beninde* (42) a Breslavia su 45 campioni ne trovano infetti l'11.1 %.

Questa varietà di risultati deve dipendere, oltrechè naturalmente dalla diffusione maggiore o minore della tubercolosi bovina nelle varie località, e a volte da diversità di tecnica, in gran parte certo dalla varietà d'origine dei campioni esaminati. Così l'*Obermüller* (10), servendosi di campioni sempre della stessa sorgente, ottenne la sua enorme percentuale; e così la *Rabinowitsch* (20) nel suo secondo lavoro, avendo osservato che i 2 campioni che erano risultati infetti, dei 15 esaminati, provenivano dallo stesso negozio, e avendo intrapreso due serie di ricerche su questo stesso burro, ottenne in una prima serie (Giugno-Luglio 1899) una percentuale dell' 87.5 %, ed in una seconda (Ottobre 1899) il 100 %. Analogamente *Herr* e *Beninde* (42) esaminando per 6 mesi consecutivi il burro di un negozio, da cui derivava uno dei loro campioni contenente bacilli tubercolari, trovarono tale burro costantemente infetto.

I risultati ottenuti prima del 1897, come pure quelli del *Gröning* (9) in quell'anno stesso, non possono essere accettati come perfettamente corrispondenti alla realtà, in quanto in essi non poteva essere tenuto conto della eventuale presenza nel burro esaminato, degli pseudotubercolari, scoperti appunto in quell'anno dal *Petri* (14). Questi microrganismi per il loro modo di comportarsi verso i metodi di colorazione, e per le lesioni che producono nelle cavie, potrebbero certamente avere influito su questi risultati. E ciò appare tanto più probabile, quando si pensi, che anche questi autori devono essersi trovati nelle loro ricerche, quasi certamente di fronte a tali microrganismi, che esistono nel burro in generale con frequenza maggiore e a volte enormemente maggiore dei veri bacilli della tubercolosi. Così il *Petri* (14) li trovò nel 60 % dei suoi campioni, la *Rabinowitsch* (8) nel 28.7 % il *Coggi* (23) nel 17.89 %, la *Tobler* (45) in 4 campioni su 12, benchè l' *Ascher* (21) non li abbia trovati e *Hormann* e *Morgenroth* (15) una volta sola su 10 campioni. Deve essere inoltre osservato che alcuni di questi

autori, come *Hormann* e *Morgenroth* (15) e il *Coggi* (23) non comprendono nella loro percentuale alcuni microrganismi, isolati dagli animali inoculati, ma che secondo essi, non resistendo alla decolorazione cogli acidi, e non essendo capaci di produrre alterazioni simili alle tubercolari non devono essere annoverati fra questi.

* * *

Ho esaminato fra la primavera e autunno dell' anno scorso e la primavera di quest' anno, 20 campioni di burro, quale si trova sul mercato di Firenze, avendo cura di variare quasi sempre il negozio in cui il campione veniva comprato. Non pretendo certo, visto il numero ancora piuttosto scarso dei campioni esaminati, di potere giungere a conclusioni che riflettano lo stato perfettamente vero del burro consumato in questa città, e tanto meno pretendo di trarre da queste mie prime ricerche una percentuale qualunque. Quello però che credo potere già dedurre, è che molto probabilmente Firenze deve occupare un posto abbastanza basso fra le varie città, rispetto al pericolo d' infezione per mezzo del burro.

La tecnica da me usata è stata semplicissima. Circa 100 cc. di burro, distribuito in 2 grosse provette sterilizzate, erano posti a liquefare nel termostato a 37°, e una volta bene sciolti, erano ripetutamente agitati per mescolare accuratamente il sedimento colla parte limpida, e il miscuglio veniva poi iniettato nella cavità addominale di 4 cavie, in quantità di 4-5 cc. per ognuna.

Di ogni campione, almeno un animale mi rimase in vita oltre 3 settimane, per cui nessuno di essi andò completamente perduto, riguardo alla ricerca del bacillo tubercolare.

Dalle cavie morte per peritonite acuta in 2 o 3 giorni, ho isolato in generale il *bacterium coli*, una sola volta ottenni culture pure di uno *streptococco*.

*Da nessun campione ho isolato il bacillo della tubercolosi.* Devo qui far notare, che da una cavia morta 24 giorni dopo l' inoculazione con una diminuzione di peso di 55 gr. (peso iniziale

gr. 735), e che presentava alla necroscopia le ghiandole linfatiche abbastanza ingrossate, soprattutto le retrosternali, aumento di volume del fegato e della milza, numerosi noduli grigi sul peritoneo parietale e sul mesenterio, noduli più evoluti sul peritoneo diaframmatico, e forti aderenze fra il fegato e gli organi vicini, non isolai nessun microrganismo. Questo caso che potrebbe rimanere sospetto, non credo sia imputabile al bacillo di Koch, e per l'assenza di noduli nella milza e nel fegato, e perchè l'inoculazione di un frammento d'organo alterato, in altro animale, non ne produsse la morte. Questa cavia, uccisa dopo 2 mesi, non presentava che leggiere adesioni fra la milza e il rene sinistro e fra l'omento e il peritoneo parietale.

Da vari campioni invece (VI, XII, XIII, XV, XVI, XVII, XIX), ho potuto ottenere culture pure di bacilli più o meno resistenti alla decolorazione coll'alcool e cogli acidi.

Questi microrganismi sono stati isolati dagli animali morti fra i 5 e i 30 giorni dopo l'inoculazione, come pure da alcuni degli animali uccisi dopo 2 mesi.

* * *

Le alterazioni, nelle cavie morte nel corso della 1ª e 2ª settimana (precisamente fra il 5° e il 10° giorno) consistono in un leggiero aumento di volume delle ghiandole linfatiche, in iperemia del peritoneo e scarso essudato, a volte alquanto emorragico, nella cavità addominale dove esistono ancora più o meno abbondanti residui del grasso iniettato, in leggiere adesioni facilmente staccabili fra il fegato e la milza, e gli organi vicini. Sono inoltre aumentati di volume, ma non molto, tanto il fegato quanto la milza. Il fegato è iperemico, come pure sono iperemici i reni. Nella cavità pleurale non si nota che un' iperemia più o meno accentuata della pleura e dei polmoni, e un aumento di volume delle ghiandole linfatiche.

Da questi animali morti piuttosto rapidamente, fu sempre isolato il bacillo *C*, e fu isolato da tutti gli organi addominali, come pure dall'essudato peritoneale e dal sangue del

cuore; da questo a volte in quantità abbondantissima. Solo al 10° giorno sembra che la diffusione del microrganismo diminuisca, giacchè non è più isolabile dal sangue del cuore, e si trova ancora, ma molto scarsamente, nella milza e nelle ghiandole linfatiche.

Negli animali venuti a morte nella 3ª e 4ª settimana si nota un dimagramento più o meno accentuato, una leggiera tumefazione delle ghiandole linfatiche, talora una leggiera iperemia del peritoneo, e a volte ancora resti di grasso nella cavità addominale. Il peritoneo è spesso a tratti opacato, e come fatto costante si vedono su di esso numerosi piccoli nodulini grigi ed altri alquanto più grossi e giallastri, più evoluti sul peritoneo diaframmatico e sull'omento che spesso aderisce agli organi circostanti. Il fegato è poco aumentato di volume ed è aderente in generale al diaframma come pure allo stomaco, alla milza e al rene, mediante spesse cotenne, nel cui interno esistono cavità contenenti sostanza caseoso-purulenta. La milza poco o nulla ingrossata, è pure circondata, specie nella sua metà posteriore da una spessa cotenna che la mantiene aderente oltrechè al fegato, anche alla parete addominale o al rene, o a tutte e due. Nella cavità toracica non si avverte che la tumefazione delle ghiandole linfatiche. In un animale esistevano nei polmoni abbondantissimi nodulini grigi.

In questi casi i microrganismi isolati furono a volte il bacillo *C*, a volte il bacillo *D*. Essi furono coltivati da tutti gli organi addominali, non dal sangue del cuore.

Gli animali uccisi dopo 2 mesi si presentarono in gran parte perfettamente normali. In altri però esistevano aderenze fibrose fra il fegato e la milza (che apparivano del resto normali) e gli organi vicini. Oltre a questo non si notava che un leggerissimo aumento di volume delle ghiandole linfatiche. Le culture fatte dai vari organi rimasero sterili. In altre cavie, invece, si erano prodotte alterazioni assai simili a quelle osservate negli animali morti nella 3ª e 4ª settimana. Le ghiandole linfatiche sono alquanto ingrossate; il peritoneo a tratti opacato e ispessito, è cosparso da numerosi nodulini di varia grandezza, alcuni grigi, altri giallastri, più

abbondanti sul peritoneo diaframmatico, più rari sull'intestino. L'omento a volte è semplicemente opacato e aderente agli organi vicini, a volte è fortemente ispessito e tale da formare una specie di cordone del diametro talora anche maggiore di 1 cm., di colorito biancastro e di consistenza fibrosa, e contenente delle piccole cavità ripiene di sostanza caseoso-purulenta. Aderenze spesse, fibrose, fra il fegato, la milza e fra gli organi vicini, e contenenti sovente nell'interno le solite cavità colla solita sostanza caseoso-purulenta. Del resto tanto il fegato quanto la milza non sono ingrossati o solo leggermente. Solo in un animale la milza era assai aumentata di volume. I reni a volte sono iperemici. Nella cavità toracica, tolta la tumefazione delle ghiandole linfatiche, e talora una leggiera iperemia dei polmoni, null'altro di notevole. Gli animali non sono dimagrati.

Le culture con risultato positivo derivavano esclusivamente dalla sostanza caseoso-purulenta; una sola volta si sviluppò qualche colonia dalla milza. I microrganismi isolati furono il bacillo *A*, il bacillo *B*, il bacillo *C*, il bacillo *D*.

Al microscopio, negli animali morti nella 1ª e 2ª settimana, si vedono i bacilli in quantità addirittura enorme, nel tessuto che forma le adesioni. Essi sono soprattutto abbondanti in quelle lacune più o meno grandi, rotonde od ovali, che appunto in queste aderenze esistono in quantità. Moltissimi però di essi si trovano anche fra le cellule. Spesso isolati, o riuniti in pochi, spesso invece formano degli ammassi anche assai grandi. Sono piuttosto sottili, di lunghezza varia, e bene resistenti alla decolorazione cogli acidi. Nel parenchima degli organi, si vedono pure rari bacilli in generale isolati, rarissimamente riuniti in piccoli mucchi.

Negli animali morti nella 3ª e 4ª settimana, il reperto è uguale per ciò che concerne il tessuto delle adesioni e dei noduli; i bacilli però mostrano nel loro corpo molti tratti incolori. Nell'interno degli organi invece, i microrganismi sono ancora più rari di prima, tanto che non si osservano più nella milza, e che bisogna esaminare molte sezioni per scoprirne qualcuno nel fegato e nelle ghiandole linfatiche.

Finalmente negli animali uccisi dopo 2 mesi, sono molto scarsi anche nel tessuto delle adesioni, come pure nell'omento ispessito e nei noduli; sono anche meno resistenti alla decolorazione. Sono assenti nei vari organi.

Non ho mai osservato cellule giganti.

* * *

Descriverò brevemente i bacilli da me isolati.

### Bacillo A.

*Morfologia.* — Bastoncini alquanto più spessi del bacillo tubercolare, di lunghezza variabile, in generale diritti e ad estremità arrotondate; alcuni rari leggermente curvi, come pure alcuni con forma leggermente clavata.

Nella maggior parte isolati o rarissimamente uniti a due. Sono disposti in generale a tratti paralleli, alcuni uniti a V.

*Motilità.* — Immobili.

*Colorabilità.* — Benissimo col *Gram;* resistono abbastanza bene al metodo *Ziehl-Neelsen.*

*In gelatina per infissione.* — Già dopo 24 ore si comincia a vedere un leggiero sviluppo nella parte superiore del canale d'infissione, e dopo 48 ore lo sviluppo, benchè sempre molto leggiero, si estende lungo tutto il canale d'innesto, sotto forma di un tenue nastro. Al 5° giorno comincia ad essere visibile lo sviluppo in superficie, che dopo circa 10 giorni ha assunto l'aspetto d'una patina piuttosto sollevata, molto rugosa, alquanto asciutta, di colorito bianco grigiastro, e del diametro di 2-3 mm.

In seguito lo sviluppo in superficie aumenta ancora, arrivando quasi alle pareti del tubo; ha i margini molto ondulati, e va assumendo un colorito giallognolo. Lo sviluppo lungo il canale d'innesto si mantiene sempre molto scarso, soprattutto nella parte profonda. Talvolta la patina superficiale ha minore tendenza ad estendersi. La gelatina non è fluidificata.

*In agar glicerinato.* — Le colonie isolate, ottenute direttamente dall'animale, compaiono sulla superficie dell'agar, dopo 3-4, alcune dopo 5 giorni.

Si estendono molto rapidamente, e appaiono come una sottile patina grigiastra, asciutta, non splendente, con margini più trasparenti, sfumati, e molto irregolari. A volte queste colonie sono meno estese, con margini più netti e la parte periferica alquanto più sollevata della parte centrale.

Nelle culture per strisciamento lo sviluppo è già evidente dopo le prime 24 ore. Dopo 48 ore si ha una patina in generale assai asciutta (a

volte un po' meno), con superficie liscia, e solo in alcuni punti qualche rilevatezza a forma di piccolo nodulino, rotondo, biancastro. Il colorito della colonia è grigiastro, senza splendore; è assai estesa al di là della linea d'innesto. I margini sono frastagliati, e la zona periferica è leggermente più trasparente della parte centrale. In seguito la patina si estende abbastanza rapidamente, ed aumentano i nodulini alla sua superficie; nella parte periferica appaiono delle piccole pieghe, pochissimo sollevate e scarse, con direzione normale all'asse maggiore della cultura. Si forma pure rapidamente una pellicola secca che ricopre tutta la superficie dell'acqua di condensazione, in cui esiste pure un leggiero deposito. Ulteriormente i piccoli nodulini, che aumentano sempre di numero, confluiscono, e in parte per questo fatto, in parte indipendentemente, si formano delle pieghe assai sollevate e spesse, a decorso più o meno tortuoso, e che dal centro della patina si dirigono verso la periferia. Lo sviluppo, specialmente nella parte inferiore della provetta, già fino dai primi giorni, ha in generale raggiunto le pareti del tubo, e le risale per un certo tratto, come pure le risale per un tratto abbastanza grande (1 cm. e più), la pellicola che si è formata sull'acqua di condensazione.

Dopo più di un mese la cultura (messa negli ultimi tempi a temperatura ambiente) è meno asciutta, e presenta un colorito leggermente roseo-giallastro; tutta la superficie è traversata da numerose pieghe molto sollevate e spesse.

A volte la distinzione fra la zona periferica e la parte centrale è nettissima; il colorito leggermente roseo-giallastro può apparire già dopo una diecina di giorni.

*In brodo.* — Dopo 24 ore leggiero deposito, mentre il liquido rimane perfettamente limpido. Dopo 48 ore si è formata alla superficie del brodo una pellicola secca, grinzosa, grigiastra, che risale lungo le pareti. Pellicola molto friabile, che anche con leggerissimo scotimento, lascia cadere al fondo, dalla sua faccia inferiore, come delle piccole scagliette. In seguito le pieghe di questa pellicola aumentano, e appariscono assai sollevate e spesse.

Dopo un mese e mezzo circa la pellicola appare spezzettata, formante come tanti isolotti, di colorito bianco-sporco, solo in alcuni punti tendente alquanto al roseo-gialliccio. Il liquido è sempre rimasto perfettamente limpido.

*Su patata.* — Comincia un leggiero sviluppo dopo 24 ore. Dopo 48 ore patina a volte alquanto sollevata sul terreno nutritivo, a volte invece poco sollevata, piuttosto asciutta, grigiastra, col diametro di circa 2 mm. Talora sulla superficie si formano rapidamente alcune piccole rilevatezze a forma di nodulini rotondi, alcuni bianchi, alcuni giallastro-rosei; talora invece non si ha che dopo circa una settimana la presenza alla superficie di numerosi e piccolissimi nodulini. Dopo una diecina di giorni la cultura può raggiungere un diametro di circa 4 mm.

Quando la cultura invecchia può presentarsi con un aspetto assai asciutto, come vellutata, a margini molto poco ondulati, di colorito roseo-arancione, e con scarse e piccolissime rilevatezze sulla superficie. Una zona periferica, larga circa $^1/_2$ mm., mantiene il suo colorito grigiastro.

*In latte.* — Si forma alla superficie una leggiera pellicola, che col tempo diviene leggermente roseo-giallastra, e un abbondante deposito. Anche dopo un mese il latte non è coagulato.

Non si ha sviluppo d'indolo; non produzione di gas; non odori speciali.

## Bacillo B.

*Morfologia.* — Bastoncini più sottili e più lunghi dei precedenti, sempre però di spessore maggiore del bacillo tubercolare. La lunghezza dei vari individui è anche qui assai variabile, a volte si hanno vari filamenti; sono più frequenti le forme leggermente curve.

Disposizione come il precedente.

*Motilità.* — Immobili.

*Colorabilità.* — Resistono benissimo al *Gram;* pure assai bene alla decolorazione cogli acidi.

*In gelatina per infissione.* — Dopo 24 ore leggiero sviluppo lungo il canale d'innesto, evidente soprattutto nella sua parte superiore. Dopo 9 giorni leggiero sviluppo in superficie sotto forma di una patina umidiccia, a superficie liscia, sollevata, a contorni assai regolari, di colore bianco-sporco e del diametro di circa 1 mm. In seguito la patina aumenta lentamente senza mai estendersi molto. La gelatina non viene fluidificata.

*In agar glicerinato.* — Le colonie isolate, ottenute direttamente dall'animale, appariscono sulla superficie dell'agar, al 5° giorno, sotto forma di patina bianca, assai sollevata sulla superficie del terreno nutritivo, hanno aspetto rotondeggiante, a margini regolari, a superficie liscia, umida e piuttosto splendente. Non hanno molta tendenza ad estendersi.

Nelle culture per strisciamento dopo 24 ore lo sviluppo è appena visibile, e dopo 48 ore appare come una patina bianca, umida, piuttosto sollevata, a margini pochissimo ondulati, a superficie liscia e assai splendente, poco estesa al di là della striscia d'innesto. Acqua di condensazione leggermente torbida e leggiero deposito. Il giorno dopo si vede sulla superficie dell'acqua di condensazione una leggiera pellicola, molto limitata e a contorni irregolarissimi, friabile. In seguito si ha una differenziazione fra la parte centrale e la marginale, la prima ha delle leggiere rilevatezze per cui assume un aspetto zigrinato, mentre la seconda mantiene la sua superficie liscia e splendente. Quasi contemporaneamente si ha un diverso colore nelle due zone, talora la parte centrale prende un leggiero colorito giallo-roseo, mentre la striscia marginale rimane bianca, talora invece la colorazione è nella zona marginale, che ha circa

il diametro di 1 mm. Spesso dopo circa 2 settimane (stata a temperatura ambiente gli ultimi 5-6 giorni) la cultura ha il seguente aspetto: Patina di aspetto cereo costituita da una striscia interna larga circa 1 $^1/_2$ mm. di colorito giallo-roseo pallido, finamente granulosa. Essa è circondata da una zona alquanto più rilevata, a superficie liscia, giallo-arancione assai intenso, splendente, del diametro di 1 mm. A questa segue una terza zona, larga anch' essa circa 1 mm., meno rialzata, più pallida della parte centrale e con numerose e piccole pieghe orizzontali.

*In brodo.* — Fra le 24 e le 48 ore leggiero intorbidamento, a volte preceduto da un leggiero deposito che collo scotimento del tubetto s' innalza a filamento. Dopo 3-4 giorni esilissime pellicole bianco-sporco sulla superficie del brodo, molto irregolari, e raggruppate verso il centro della provetta. Talora piccoli fiocchetti nuotanti nel liquido. In seguito la pellicola si estende, è sempre però molto sottile e spesso apparisce come costituita da varie pellicole che abbiano confluito, coi margini molto irregolari e a volte con soluzioni di continuo anche nell' interno. Dopo 5-6 giorni arriva alle pareti del tubo e le risale per un piccolo tratto, è sempre molto friabile, sottile, asciutta e a superficie liscia. Il deposito al fondo del tubetto è abbondante e da questo come pure dalla faccia inferiore della pellicola, s' immettono a volte filamenti piuttosto lunghi nell' interno del liquido. L' intorbidamento è diminuito.

*Su patata.* — Dopo 24 ore leggiero accenno di sviluppo. Dopo 48 ore patina umida, grigia, alquanto sollevata, a margini pochissimo ondulati, del diametro di circa 2 mm. La patina in seguito si estende lentamente, per arrivare dopo circa 7 giorni ad un diametro approssimativo di 3 mm. Dopo una dozzina di giorni appariscono alla superficie numerosi piccolissimi nodulini. Stata per qualche tempo a temperatura ambiente, questi nodulini, che esistono soprattutto nella parte centrale inferiore della cultura, hanno assunto un colorito giallo-roseo. Sulla parte inferiore della patata lo sviluppo si è esteso a tutta la superficie.

*In latte.* — Leggiere pellicole gialle alla superficie, e anello pure giallo. Abbondante deposito. Non coagula il latte.

Non si ha produzione d'indolo; non sviluppo di gas; non odori speciali.

Fra i microrganismi pseudotubercolari che si sviluppano con colonie bianche e che solo più tardi prendono un certo colore, abbiamo prima di tutti il bacillo isolato dalla *Rabinowitsch* (8). Esso si avvicina al bacillo *B* anche per la poca stabilità dei suoi caratteri culturali. Infatti questa autrice nota come il suo microrganismo che inizialmente dà su agar una cultura spessa e umida, dopo ripetuti passaggi negli animali dà invece una patina asciutta, fragile; ora questa stessa mo-

dificazione si verificò per il mio bacillo dopo ripetuti passaggi in agar, avvicinandosi in tal modo all'aspetto della cultura del bacillo *A*. Questa medesima poca stabilità si riscontra anche nei dati di quei ricercatori che isolarono o sperimentarono questo stesso microrganismo. Il *Coggi* (23), per esempio, pure ritenendo il suo bacillo identico a quello della *Rabinowitsch*, nota la differenza che nel brodo il suo manda delle propaggini dalla pellicola superficiale nell'interno del liquido, lasciandolo tuttavia limpido; fatto, d'altra parte, non osservato dal *Carnevali* (37) che pure sperimentava sul microrganismo isolato dallo stesso *Coggi*. Il bacillo *II* della *Tobler* (45) (forma nelle culture filamenti con diramazioni), che assomiglia abbastanza per i suoi caratteri culturali al bacillo *A*, è ritenuto da essa uguale a quello della *Rabinowitsch*, benchè non abbia mai osservato il colorito giallo e arancio.

Non avendo a mia disposizione i vari microrganismi resistenti alla decolorazione cogli acidi, isolati in questi ultimi anni da diversi ambienti, non posso con certezza identificare quelli da me descritti con quelli già noti. Tanto più che le descrizioni date dai loro scopritori, sono spesso tutt'altro che complete. Mi limiterò quindi a raggruppare qui quei bacilli che offrono delle assomiglianze coi miei due *A* e *B*, e alcuni dei quali potrebbero, data la non molta costanza dei caratteri culturali di questi microrganismi, essere identici ai miei.

Il bacillo trovato nel burro dal *Korn* (24) si allontana dai sopradescritti per la rapidità colla quale si sviluppa in gelatina, poichè dopo 3 giorni dà già uno sviluppo evidente anche in superficie. Del resto esso forma una patina bianca, un po' rialzata, debolmente ondulata, piuttosto non splendente. In più avrebbe la caratteristica nelle culture vecchie d'intorbidare alla superficie la gelatina, che prende un aspetto lattescente. D'aspetto abbastanza simile a quelli da me isolati è la cultura in agar glicerinato, dove forma dopo 24 ore una patina abbastanza spessa, bianca, splendente, con sviluppo anche sull'acqua di condensazione. Dopo 2-3 giorni si producono pieghe orizzontali, spesse, rigonfiate, opache, e pellicola nell'acqua di condensazione, da principio sottile, delicata, dopo più spessa,

risalente le pareti. Dopo molto tempo tutta la superficie dell'agar è ricoperta da una pellicola grossolana a pieghe. Quando l'agar comincia a disseccarsi la cultura prende un colore rameico chiaro, d'intensità variabile. In brodo dopo 2 giorni pellicola sufficientemente spessa che facilmente si spezza. Odore cattivo ma non ammoniacale. Nel latte nulla di speciale; su patata invece si ha dopo 48 ore una patina bianca, non splendente, poco rilevata, che poi diventa leggermente ondulata e brunastra.

Il bacillo *IV*, della *Tobler* (45) (morfologicamente uguale al suo bacillo *II*), ha pure uno sviluppo abbastanza rapido in gelatina, dove forma alla superficie una patina bianca, pieghettata, e lungo il canale uno sviluppo fine granuloso. È invece abbastanza simile al bacillo *B* in agar glicerinato, poichè dopo 24 ore si ha una patina non splendente, bianca, che presto diventa rilevata, e presenta nel centro una fine pieghettatura a forma di rete, mentre le parti periferiche restano lisce. Non pigmentazione. In brodo si produce prima intorbidamento che poi scompare, mentre alla superficie si forma una pellicola bianca, pieghettata, risalente le pareti, e al fondo sedimento. Culture poco caratteristiche in latte e su patata.

Caratteri meno simili hanno certamente i due seguenti bacilli trovati dal *Moeller* (18, 25).

Il bacillo isolato dal *Phleum pratense* (*Timotheebacillus*, *Graspilz I*), presenta sulla superficie della gelatina, dopo 13 giorni, una patina asciutta, ineguale, giallo-rossastra. In agar glicerinato la cultura prima bianca, poi bianco-grigiastra, assume dopo 3-4 giorni un colorito grigio. L'acqua di condensazione rimane chiara, la patina asciutta risale le pareti. In brodo il liquido resta limpido, mentre si addossano alle pareti e al fondo piccoli grumi che collo scotimento s'innalzano a voluta. Dopo 3-4 giorni pellicola sottile e delicata, trasparente, bianco-giallastra, asciutta, priva di splendore, risalente le pareti. Su patata patina spessa, gialla, costituita da numerosi piccoli noduli, asciutti e difficilmente sminuzzabili. Nel latte dopo 5 giorni, alla superficie piccoli tratti giallo-rossastri.

Il bacillo isolato dalla polvere del foraggio (*Graspilz II*)

forma filamenti con vere diramazioni. In gelatina si ha dopo 4-5 giorni un buon sviluppo lungo il canale. In agar glicerinato dopo 2 giorni lo sviluppo si presenta come goccie di rugiada che poi confluiscono. La cultura in seguito diventa un po' sollevata, non splendente, e assume un colorito giallastro. Sull'acqua di condensazione, che rimane chiara, nuotano pellicole. In brodo sedimento che scuotendo s'innalza a filamenti; alla superficie pellicola grigio-biancastra che risale le pareti; il brodo rimane limpido. Nulla di caratteristico nè in latte nè in patata.

Differente assolutamente deve essere il bacillo trovato nel latte dal *Horn* (39), il cui carattere più importante è che visibilmente non si sviluppa in gelatina, e lo sviluppo è sempre minimo su tutti i terreni nutritivi a temperatura ambiente, anzi in agar manca affatto.

Tutti questi microrganismi non fluidificano la gelatina.

### Bacillo C.

*Morfologia.* — Aspetto e disposizione come il bacillo *A*.

*Motilità.* — Immobili.

*Colorabilità.* — Resiste bene al *Gram*. Nei preparati fatti col metodo *Ziehl-Neelsen* si vedono individui che hanno bene resistito, unitamente ad individui colorati appena in rosa pallidissimo.

*In gelatina per infissione.* — Dopo 24 ore si ha appena e non sempre un leggiero accenno di sviluppo, visibile solo nel tratto superiore del canale d'innesto. Dopo circa 5 giorni comincia lo sviluppo in superficie, sotto forma di una patina alquanto sollevata, umida, giallo-sporco, limitata al punto d'innesto. Questa patina tende lentamente ad estendersi assumendo un colorito giallastro con contorni leggermente ondulati. In seguito la cultura, a volte, non si presenta più sollevata, ma ha anzi tendenza a infossarsi nella gelatina, e ulteriormente si presenta come accartocciata alla periferia, con aspetto piuttosto asciutto. A volte invece la patina continua a rimanere piuttosto sollevata e umida. Si estende sempre assai poco. Non fluidifica la gelatina.

*In agar glicerinato.* — Le colonie isolate, ottenute direttamente dall'animale, appaiono sulla superficie dell'agar dopo 2-3-5 giorni. Sono colonie di colorito giallo oro, non molto sollevate sulla superficie del terreno nutritivo, a superficie alquanto umida e splendida, a margini netti e leggermente ondulati. Hanno tendenza ad estendersi piuttosto

rapidamente, e le più sviluppate presentano alla superficie delle pieghe radiali, le più piccole il centro e la periferia leggermente più sollevati. Del resto tanto nelle prime quanto nelle seconde, lo spessore della colonia non varia che pochissimo in tutta la sua estensione. Sono pochissimo aderenti al terreno nutritivo. Più raramente le colonie isolate sono più rilevate, più umide, a superficie liscia e convessa, con minore tendenza ad estendersi, giallastre.

Nelle culture per strisciamento lo sviluppo dopo 24 ore è appena visibile, biancastro; dopo 48 ore sulla superficie dell'agar esiste una patina umida, poco ma egualmente sollevata su tutta la sua estensione, poco estesa al di là della striscia d'innesto, di colorito leggermente giallo e superficie liscia, piana e splendente. I margini sono nettissimi e poco ondulati. V'è già deposito nell'acqua di condensazione, e la patina in corrispondenza di essa si continua alquanto sulla sua superficie. Presto (3°-4° giorno) la patina apparisce traversata orizzontalmente, e in generale in tutta la sua larghezza, da pieghe pochissimo sollevate, ma assai larghe; ha un colore giallo oro. In seguito la cultura, nella parte inferiore del tubo, arriva sino alle pareti e le risale; ricopre pure completamente l'acqua di condensazione. Le pieghe a volte non interessano tutta la larghezza della cultura, come pure a volte a un certo punto si dividono in due. In seguito alcuni lembi della pellicola sull'acqua di condensazione, mostrano tendenza a cadere al fondo, mentre specialmente nella parte inferiore dello sviluppo, talora fra gli spazi fra le larghe pieghe orizzontali, si formano numerosi solchi leggermente ondulati, poco sollevati, a direzione verticale. La superficie si mantiene ancora alquanto umidiccia, splendente. Talora negli strisciamenti fatti dalle colonie del secondo tipo, non si formano le pieghe orizzontali, la patina è più umida, meno estesa, di colorito meno decisamente giallo; talora invece non differiscono dalle prime culture se non per il numero di pieghe alquanto inferiore.

*In brodo.* — Solo dopo 48 ore si rende visibile lo sviluppo sotto forma di una leggerissima pellicola bianco-grigiastra alla superficie del liquido, estesa fino alle pareti del tubo sulle quali risale alquanto. Si vede inoltre qualche piccolo fiocchetto nuotante nel brodo. In seguito si osserva uno scarso deposito come pure deposito pulverulento sulle par ti. La pellicola superficiale si fa poi più resistente, più asciutta e splendente, e a superficie leggermente ondulata. Comincia poi a screpolarsi, mentre alcuni lembi tendono a cadere. A volte si ha invece intorbidamento del brodo, mentre alla superficie non si forma che una leggiera e piccola pellicola, che manda nell'interno del liquido un filamento lungo talora anche più di 2 cm.

*Su patata.* — S'inizia lo sviluppo dopo 24 ore, ma è sempre molto leggiero anche dopo 48 ore. Il giorno seguente appare sotto forma di una patina ora umida di colore giallo-rossastro, ora invece più asciutta, grigia leggermente giallastra. Dopo 4 giorni il diametro è di circa 2 mm.,

è alquanto sollevata sulla superficie del terreno nutritivo, con margini assai regolari e netti. Al decimo giorno appariscono alla superficie piccolissimi nodulini. Talora si mantiene sempre molto umida a superficie alquanto ondulata con colorazione giallo grigiastra non ugualmente diffusa, ma a chiazze. Nella parte inferiore può estendersi a tutta la superficie della patata.

*In latte.* — Dopo vari giorni deposito assai abbondante e alla superficie anello giallastro. Il latte non è coagulato.

Reazione dell'indolo assente; non produzione di gas; non odore speciale.

Nella letteratura, un microrganismo che presenta assomiglianze culturali con questo, è il bacillo trovato dal *Moeller* (18) nel concime (*Mistbacillus*).

In gelatina leggiero sviluppo anche in superficie. Dopo 2-3 giorni forma sulle piastre di agar glicerinato, colonie che si differenziano da quelle del bacillo *C*, per il fatto che spesso il centro diventa crateriforme. Nelle culture per strisciamento sembra che le pieghe si formino più tardi, ma devono essere identiche a quelle del bacillo sopradescritto, giacchè il *Moeller* dice che si ha una formazione di pieghe *a ondate*, ad angolo retto coll' asse maggiore dello sviluppo. Il colorito è giallo oro o giallo arancio. In brodo è pure molto simile, colla sola differenza che l'autore accenna solamente alla presenza sulla superficie di piccole pellicole e non di una pellicola continua. Su patata nulla di speciale. Le differenze consistono nella resistenza forte che ha questo microrganismo per la decolorazione, nel fatto che si ha coagulazione in alcuni tubi di latte.

Se il bacillo *C* è uguale a questo bacillo, non sarebbe esatta l'opinione del *Moeller*, che questo microrganismo non possa trovarsi nel latte, opinione che l'autore fonda sul fatto osservato che seminando l'estratto del concime in questo mezzo, non si ha sviluppo.

Simile ad esso è pure il bacillo I della *Tobler* (45), pure bene resistente alla decolorazione cogli acidi, che forma sul brodo una sottile pellicola, non coagula il latte, ma produce indolo.

## Bacillo D.

*Morfologia.* — Bastoncini molto corti e tozzi, a estremità molto arrotondate, isolati, disposti senza nessun ordine.

*Motilità.* — Immobile.

*Colorabilità.* — Resiste bene al *Gram.* Assai bene anche alla decolorazione cogli acidi, benchè nei preparati alcuni individui appaiano debolmente coloriti.

*In gelatina per infissione.* — Dopo 48 ore si avverte già un leggiero sviluppo lungo il canale d'innesto, specialmente nella parte superiore. Solo dopo 5 giorni appare anche lo sviluppo in superficie, limitato al punto d'innesto, d'aspetto piuttosto asciutto, di colorito rosso-mattone. In seguito la patina alla superficie della gelatina va lentamente estendendosi, è sempre asciutta, di colorito rosso-mattone intenso, con margini irregolari e superficie rugosa; può raggiungere un diametro di circa 4 mm. A volte invece rimane molto limitata, estendendosi poco al di là del punto d'innesto. La gelatina non è fluidificata.

*In agar glicerinato.* — Le colonie isolate direttamente dall'animale, appaiono sulla superficie dell'agar dopo 2 giorni; hanno tendenza ad estendersi rapidamente, sono molto sottili, a margini fortemente irregolari, secche, di colorito rosso-mattone.

Sulle culture per strisciamento, dopo 24 ore si ha una pellicola sottile, a volte semplicemente come un velamento, asciutta, grigiastra, a margini leggermente ondulati, assai estesa oltre la linea d'innesto, con qualche nodulino piccolo, poco sollevato e leggermente roseo, nella parte inferiore dello sviluppo. Dopo 48 ore i margini si fanno molto frastagliati, la pellicola sempre molto sottile è assai estesa. Si nota una parte centrale alquanto più spessa, di colorito rosso-mattone pallido, con numerosi piccoli nodulini alla superficie, e una zona periferica più sottile, meno colorita. Pellicola granulosa, secca, rosea sull'acqua di condensazione, risalente lungo le pareti del tubo, e leggiero deposito. A volte si osservano, nella parte centrale, oltre ai nodulini, anche delle esilissime pieghe, ravvicinate, corte, irregolari, tali da dare alla superficie un aspetto pulverulento. La zona periferica ha spesso delle sottili e numerose pieghe, ravvicinate, quasi parallele fra loro e con direzione normale all'asse maggiore della cultura. In breve nella parte inferiore del tubo, lo sviluppo arriva fino alle pareti e le risale per un certo tratto; la cultura ha preso un colore rosso-mattone intenso.

Una cultura, che dopo alcuni giorni di termostato era stata messa a temperatura ambiente, e conservata per circa 2 mesi, aveva assunto il seguente aspetto: La parte periferica era rimasta invariata, la parte centrale invece era più sollevata e con distacco netto dalla porzione

marginale. Il colorito è roseo, e dalla sua periferia si spingono sull'antica zona marginale delle corte propaggini di colore roseo pallidissimo o assolutamente bianche. Alcune protuberanze bianche di forma ovale o rotonda sono isolate sulla zona marginale; e s'innalzano su questa quanto la parte centrale.

*In brodo.* — Dopo 24 ore il liquido è perfettamente limpido, v'è un leggerissimo deposito, e alla superficie una pellicola asciutta, sottile, granulosa, bianco-grigiastra, estesa fino alle pareti del tubo, e risalente lungo di esse per un certo tratto. Dopo 48 ore il liquido continua a rimanere limpido, la pellicola presenta numerose pieghe assai sollevate, è di colorito roseo, e risale per circa $^1/_2$ cm. le pareti del tubo. Così si mantiene per qualche giorno invariata, solo la pellicola assume un colore rosso-mattone intenso; in seguito la superficie della pellicola si presenta non più a pieghe, ma fortemente ondulata, con rilevatezze e infossamenti molto accentuati; finalmente si acquatta e comincia a screpolarsi. Può risalire le pareti del tubo anche per 1 cm.; si mantiene sempre molto friabile.

*Su patata.* — Lo sviluppo comincia ad essere visibile già dopo 24 ore, dopo 48 ore si presenta sotto forma di una patina leggermente sollevata, di colorito arancione, a superficie liscia, asciutta, con margini nettissimi, regolari, quasi paralleli. In seguito si solleva maggiormente sulla superficie del terreno nutritivo e prende un colore rosso-mattone intenso. Dopo circa 5 giorni compaiono sulla superficie della cultura, numerosi nodulini assai rilevati, che vanno poi aumentando di numero. Lo sviluppo si estende assai poco dalla linea d'innesto, non oltrepassando il diametro di 2-3 mm.

*In latte.* — Si forma abbastanza rapidamente una pellicola rosso-mattone alla superficie, e deposito. Il latte non è coagulato.

Reazione dell'indolo negativa; non produzione di gas; non odore speciale.

Questo bacillo è fra quelli da me isolati il più instabile nelle sue proprietà culturali. Dagli animali inoculati con questo microrganismo unitamente a burro sterilizzato, si ottengono spesso colonie del tutto differenti dalle originali, a volte sole a volte unitamente a queste. Alcune sono rotonde, assai rilevate, a margini netti e regolari, a superficie umida e liscia, di colorito rosso; altre d'aspetto molto simile ma bianche. Le prime danno nello strisciamento su agar glicerinato una patina umida, poco estesa oltre la linea d'innesto, con margini pochissimo ondulati, di colorito roseo che in seguito si fa più intenso; sull'acqua di condensazione, piuttosto intorbidata,

leggiera pellicola granulosa, asciutta, rosso-mattone, che s'innalza lungo le pareti. La cultura in brodo ha i caratteri del bacillo *D*, colla differenza che qui il liquido è intorbidato. Questa varietà dopo alcuni passaggi in agar, ha tendenza a riprendere l'aspetto della cultura originale. Dalle colonie bianche invece s'ottengono culture del tutto assomiglianti a quelle del bacillo *B*.

Con molta probabilità il bacillo *D* è uguale al microrganismo isolato dal burro da *Hormann* e *Morgenroth* (15) e da altri fra cui il *Coggi* (23). La differenza culturale principale fra quello trovato dai primi e quello trovato dal secondo sta nella cultura in brodo che è intorbidato dal bacillo isolato da *Hormann* e *Morgenroth*, mentre rimane limpido per il microrganismo trovato dal *Coggi*. Ora questa differenza non può avere importanza quando si pensi a ciò che sopra è stato detto.

Molto simili sono pure il bacillo *III* e il bacillo *V* della *Tobler* che hanno rare diramazioni, e che l'autrice differenzia fra loro per la maggiore o minore umidità delle culture per strisciamento in agar glicerinato, per il diverso tono di colore e forse anche perchè il primo intorbida il brodo, mentre per il secondo d'intorbidamento non è fatto cenno.

Questi microrganismi, secondo *Hormann* e *Morgenroth* e anche secondo il *Coggi* non dovrebbero essere considerati come pseudotubercolari, perchè non resisterebbero agli acidi e perchè sarebbero perfettamente innocui per gli animali. Ora *Grassberger* (28) osservò, almeno nelle culture giovani di questi microrganismi, una certa resistenza agli acidi, fatto pure osservato dalla *Tobler*, e del resto secondo il *Klein* (40), anche per il vero tubercolare può verificarsi una diminuzione nella sua resistenza alla decolorazione. Quanto alla loro azione patogena è ammessa dal *Grassberger*, e secondo le mie esperienze, quando siano inoculati contemporaneamente a burro sterilizzato, sono capaci di produrre delle vere lesioni pseudotubercolari.

La varietà bianca di questo bacillo, oltre che per il passaggio in animali, può essere ottenuta anche dalle vecchie culture del bacillo *D*, e anche più facilmente dalla sua varietà rosso-umida, quando si facciano passaggi dai tratti

bianchi che in ambedue queste culture si formano dopo un tempo più o meno lungo.

* * *

Questi microrganismi da me isolati, si dimostrarono in generale dotati di un potere patogeno minore rispetto a quello di molti pseudotubercolari isolati da altri.

Il bacillo della *Rabinowitsch*, secondo questa autrice, è patogeno per le cavie ma non costantemente. Negli animali morti dopo 3-4 settimane si trova una ricca formazione di noduli nei fogli peritoneali, le gh. mesenteriche rigonfiate hanno un contenuto purulento-caseoso, la milza è pure piena di noduli e questi si possono trovare anche nel polmone. Il microrganismo però, isolato dalla stessa, in un caso di gangrena polmonare, e che per i caratteri culturali non si differenzia dal primo, non è patogeno se non inoculato contemporaneamente a burro sterilizzato, dando allora le stesse alterazioni prodotte dal bacillo isolato dal burro. Il *Coggi* trovò che il microrganismo da lui isolato era capace di dare lesioni che hanno però gran tendenza alla guarigione, tanto che sono più manifeste negli animali uccisi dopo 12-16 giorni che in quelli uccisi dopo 37-38 giorni. In questi riscontrò solo aderenze del fegato e della milza cogli organi vicini, come segno di malattia pregressa. Alterazioni simili a quelle trovate dalla *Rabinowitsch* dà il bacillo *II* della *Tobler*; se inoculato contemporaneamente a burro sterilizzato produce la cosiddetta peritonite cotennosa. Il bacillo del *Korn* non è patogeno inoculato nel peritoneo di cavie, conigli, piccioni, galline, è invece patogeno per i topolini bianchi che muoiono fra i 4 giorni a 4 settimane, con produzione di noduli in tutti gli organi. Dotati di alto potere patogeno sono i 3 bacilli del *Moeller* che dànno alterazioni corrispondenti ad una vera tubercolosi miliare e possono produrre nei polmoni delle vere caverne ripiene di una massa purulenta. Il secondo bacillo del *Korn* dà alterazioni delle ghiandole mesenteriche mentre gli altri organi rimangono normali. Ho già detto del potere patogeno dei microrganismi di *Hormann* e *Morgenroth*.

Per nessuno dei miei bacilli ebbi la produzione di noduli nel fegato e nella milza.

Il solo bacillo che iniettato in cultura pura cagioni alterazioni di una certa importanza, è il bacillo *A*, ma anch' esso non costantemente. Queste alterazioni consistono in un leggiero rigonfiamento delle ghiandole linfatiche, formazione di nodulini grigi sul peritoneo parietale, più evoluti sul peritoneo diaframmatico, estese adesioni fra la milza, il fegato, l'omento e lo stomaco. A volte però non si riscontrano che leggiere adesioni fra la milza o l'omento e la parete addominale. Lesioni più gravi si hanno quando contemporaneamente venga iniettato burro sterilizzato. Qui troviamo nelle spesse cotenne che si sono formate intorno al fegato e alla milza, delle cavità piene di sostanza caseoso-purulenta, e i noduli oltre a trovarsi nel peritoneo, si sono pure sviluppati nel polmone. Quest' ultimo reperto però non è costante.

Il bacillo *B* non produce alterazioni inoculato in cultura pura. Inoculato insieme al burro può produrre la morte spontanea della cavia, e le alterazioni sono simili a quelle causate dal bacillo *A*, ma non dà mai lesioni nei polmoni.

Il bacillo *C* inoculato solo, o non dà alterazioni o al più si trovano alla necroscopia leggiere adesioni. Inoculato contemporaneamente a burro sterilizzato, produce la morte dell'animale rapidamente (tanto inoculando 2 cc. di cultura, quanto inoculandone 1) fra il 5° e il 10° giorno, e alla necroscopia si nota una forte iperemia del peritoneo, essudato scarso emorragico nella cavità addominale, estese adesioni facilmente staccabili fra i vari organi addominali; il microrganismo è isolabile anche dal sangue del cuore.

Il bacillo *D* innocuo se inoculato solo o che al più dà origine semplicemente a leggiere adesioni, quando venga inoculato con burro sterilizzato produce una leggiera tumefazione delle ghiandole linfatiche, numerosi piccoli noduli sul peritoneo, e forti ed estese aderenze fra la milza e il fegato e gli organi vicini; l'omento è ispessito.

*
* *

Questi microrganismi furono trovati, oltrechè nel latte e nel burro, anche in vari altri ambienti. Essi erano già stati osservati dal *Severin* (*), dal *Ferran* (*), dall'*Olt* (29) nel letame, come pure nel 1900 dal *Santori* (36) nelle feci di vacche non tubercolotiche. Erano pure stati visti nelle feci fresche di vacche, cavalli, scimmie, maiali, ecc. dal *Moeller* (18, 19, 25), che nel 1898 riuscì a coltivarli dal concime, dalle foglie del *Phleum pratense* e nel 1899 dalla polvere del foraggio; il *Mironescu* (46) ne isolò dalle feci umane, e finalmente l'*Herr* (41) nel 1901, potè coltivarli da vari campioni di terra, dai semi del *Phleum pratense*, di cereali e dalla polvere di fieno. Data questa loro diffusione in natura, non appare strano che essi si trovino con relativa frequenza nel latte e nei suoi derivati. E che realmente questi microrganismi arrivino nel latte dall'esterno è confermato anche dall'osservazione del *Santori*, che vide questi bacilli tanto più abbondanti nel sedimento del latte, quanto maggiore era il sudiciume totale del latte stesso, e specialmente i residui fecali.

Un fatto di grande interesse è l'avere trovati tali microrganismi anche nell'uomo. Lo *Zahn* (**) riferisce appunto un caso in cui durante la vita era stata fatta la diagnosi di tubercolosi polmonare con reperto positivo negli sputi, e che alla necroscopia non mostrava nessuna lesione tubercolare. Il *Laabs* (**) trovò simili bacilli negli sputi e nella patina dentaria d'individui certamente non tubercolotici. Interessantissima l'osservazione del *Moeller*, fatta su sè stesso; soffrendo egli d'angina ed emettendo dei piccoli stracci derivanti dalle tonsille, esaminatili al microscopio li trovò costituiti da vari microrganismi alcuni dei quali resistenti agli acidi. Diluito uno di questi piccoli stracci in brodo, ottenne dopo 3 giorni una rigogliosa moltiplicazione di quei microrganismi, fatto che gli

(*) Citati dal Mironescu.
(**) Citati dalla Rabinowitsch.

fece scartare l'idea potersi trattare di bacilli tubercolari. Il *Marzinowsky* (31), trovò pure microrganismi resistenti agli acidi nelle tonsille, e il *Karlinski* (47) nel secreto nasale.

Furono soprattutto trovati spesso bacilli resistenti alla decolorazione cogli acidi, negli spurghi d'individui affetti da gangrena polmonare. Così nei casi riportati dal *Pappenheim* (16), e dal *Fraenkel* (17), nei quali però i microrganismi si comportarono rispetto agli speciali metodi di colorazione più come *Smegma-bacillo* che come vero bacillo tubercolare, mentre nel caso riferito dalla *Rabinowitsch*, essi non si poterono differenziare dal bacillo tubercolare nemmeno se trattati coi metodi differenziali consigliati dal *Bunge* e *Trantenorth*, dal *Pappenheim* e dall'*Hansel*. La *Rabinowitsch* ottenne però questo microrganismo in cultura pura, e dalla breve descrizione che ne fa, esso apparisce uguale al bacillo da lei stessa isolato dal burro. Il *Folli* (44) ultimamente trovò pure in 6 casi di gangrena polmonare, 3 volte bacilli pseudotubercolari, che non potè ottenere in cultura pura, ma che apparivano sempre meno resistenti alla decolorazione, del vero bacillo tubercolare.

Giugno 1902.

## Bibliografia.

1. Scala e Alessi, Sulla possibilità di trasmissione di alcune malattie per mezzo del burro artificiale. (Annali dell'Istituto d'igiene dell'Università di Roma, I, 1889).
2. L. Heim, Ueber das Verhalten der Krankheitserreger der Cholera, des Unterleibstyphus und der Tuberkulose in Milch, Butter, Molken und Käse. (Arbeiten a. d. Kaiserl. Gesund. A., 1889; rif. Baumgarten's Jahresbericht, 1889).
3. Brusaferro, Alcune esperienze di inoculazione col burro del commercio. (Giornale di med. veter. pratica, 1890).
4. Gasperini, Il burro naturale come mezzo di trasmissione della tubercolosi. (Giornale della R. Soc. d'igiene, 1890).
5. H. Laser, Ueber das Verhalten von Typhusbacillen, Cholerabakterien und Tuberkelbacillen in der Butter. (Zeitschr. f. Hyg. ecc., 1891, Bd. X; rif. Baumgarten's Jahresbericht, 1891).
6. O. Roth, Ueber das Vorkommen von Tuberkelbacillen in der Butter. (Correspondenzblatt f. Schweizer Aerzte, 1894; rif. Baumgarten's Jahresbericht, 1894).

7. G. SCHUCHARDT, Einige Untersuchungen über das Vorkommen der Tuberkelbacillen in der Butter. (Inaugural Dissert., Marburg, 1896; rif. Baumgarten's Jahresbericht, 1896).
8. L. RABINOWITSCH, Zur Frage des Vorkommens von Tuberkelbacillen in der Marktbutter. (Deutsche med. Wochenschr., 1897; Zeitschr. f. Hyg. ecc., XXVI, 1897).
9. GROENING, Tuberkulose der Butter. (Centralztg. f. Veterinär-Viehmarkt u. Schlachthofangelegenheiten, 1897; rif. Baumgarten's Jahresbericht, 1897).
10. K. OBERMÜLLER, Ueber Tuberkelbacillenbefunde in der Marktbutter. (Hyg. Rundschau, 1897; rif. Baumgarten's Jahresbericht, 1897).
11. R. J. PETRI, Bemerkungen über die Arbeit des Herrn Dr. Obermüller: « Ueber Tuberkelbacillenbefunde in der Marktbutter ». (Hyg. Rundschau, 1897; rif. Baumgarten's Jahresbericht, 1897).
12. A. RONDELLI, Sulla presenza del bacillo della tubercolosi nel latte e nel burro del mercato di Torino. – Nota preventiva. (Rivista d'Igiene e Sanità pubblica, IX, 1898).
13. HORMANN und MORGENROTH, Weitere Mittheilungen über Tuberkelbacillenbefunde in Butter und Käse. (Hyg. Rundschau, 1898; rif. Rivista d'Igiene e Sanità pubblica, 1899).
14. R. J. PETRI, Zum Nachweis der Tuberkelbacillen in Butter und Milch. (Arbeiten a. d. kaiserl. Gesundheitsamte, XIV, 1898; rif. Baumgarten's Jahresbericht, 1898).
15. HORMANN und MORGENROTH, Ueber Bakterienbefunde in der Butter. (Hyg. Rundschau, 1898; rif. Baumgarten's Jahresbericht, 1898).
16 A. PAPPENHEIM, Befund von Smegmabacillen im menschlichen Lungenauswurf. (Berl. klin. Wochenschr., 1898).
17. A. FRAENKEL, Einige Bemerkungen über das Vorkommen von Smegmabacillen im Sputum. (Berl. klin. Wochenschr., 1898).
18. A. MOELLER, Mikrorganismen, die den Tuberkelbacillen verwandt sind und bei Thieren eine miliare Tuberkelkrankheit verursachen. (Deutsche med. Wochenschrift, XXIV, 1898).
19. A. MOELLER, Ein Mikroorganismus welcher sich morphologisch und tinktoriell wie der Tuberkelbacillus verhält. (Deutsche med. Zeitung, 1898).
20. L. RABINOWITSCH, Weitere Untersuchungen zur Frage des Vorkommens von Tuberkelbacillen in der Marktbutter. (Deutsche med. Wochenschr., XXV, 1899).
21. ASCHER, Untersuchungen von Butter und Milch auf Tuberkelbacillen. (Zeitschr. f. Hyg. ecc., XXXII, 1899).
22. MORGENROTH, Ueber das Vorkommen von Tuberkelbacillen in der Margarine. (Hyg. Rundschau, 1899; rif. Revue d'hyg. ecc., XXII, 1900).
23. C. COGGI, Sulla presenza di bacilli tubercolari nel burro del mercato di Milano. (Giornale della reale Soc. ital. d'igiene, 1899).

24. O. Korn, Zur Kenntniss der säurefesten Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. ecc., XXV, 1899).
25. A. Moeller, Ein neuer säure-und alkoholfester Bacillus aus der Tuberkelbacillusgruppe, welcher echte Verzweigungsformen bildet. (Centralbl. f. Bakt. ecc., XXV, 1899).
26. Weissenfeld, Ueber Bacterien in der Butter und einigen anderen Milchproducten (Berl. klin. Wochenschr., 1899).
27. O. Korn, Tuberkelbacillenbefunde in der Marktbutter. (Archiv f. Hyg., XXXVI).
28. R. Grassberger, Ueber die nach intraperitonealer Injection von Marktbutter bei Meerschweinchen entstehenden Veränderungen. (Münch. med. Wochenschr., 1899).
29. Olt, Säurefeste Bakterien. (Rif. Centralbl. f. Bakt., ecc., XXV, 1899).
30. G. Mayer, Zur histologischen Differential-Diagnose der säurefesten Bakterien aus der Tuberkulose-Gruppe. (Virchow's Archiv f. path. Anat., 1900, vol. 160).
31. E. J. Marzinowsky, Ueber einige in den Krypten der Gaumenmandeln gefundene Bacillenarten. (Centralbl. f. Bakt. ecc., XXVIII, 1900).
32. A. Herbert, Untersuchungen über das Vorkommen von Tuberkelbacillen in der Marktbutter. (Centralbl. f. Bakt. ecc., XXVII, 1900).
33. L. Rabinowitsch, Befund von säurefesten tuberkelbacillenähnlichen Bakterien bei Lungengangrän. (Deutsche med. Wochenschr., 1900).
34. Bonhoff, Ueber das Vorkommen von Tuberkelbacillen in der Marburger Butter und Margarine. (Hyg. Rundschau, 1900; rif. Baumgarten's Jahresbericht, 1900).
35. J. Strassburger, Ueber den Nachweis von Tuberkelbacillen in den Fäces. (Münch. med. Wochenschr., 1900).
36. S. Santori, Sulla presenza del bacillo della tubercolosi nel latte di Roma, e sul valore da dare alla sua colorazione specifica. (Ann. d'igiene sper., 1900, vol. X).
37. A. Carnevali, Sul bacillo della pseudotubercolosi del latte e del burro. (Ann. d'igiene sper., 1900, vol. X).
38. L. Rabinowitsch, Ueber die Gefahr der Uebertragung der Tuberkulose durch Milch und Milchprodukte. (Deutsche med. Wochenschr., 1900).
39. O. Korn. Weitere Beiträge zur Kenntniss der säurefesten Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. ecc., XXVII, 1900).
40. E. Klein, Zur Kenntniss der Verbreitung des Bacillus tuberculosis und pseudotuberculosis in der Milch, sowie der Biologie des Bacillus tuberculosis. (Centralbl. f. Bakt. ecc., XXVIII, 1900).
41. F. Herr, Ein Beitrag zur Verbreitung der säurefesten Bacillen. (Zeitschr. f. Hyg. ecc., XXXVIII, 1901).
42. F. Herr und M. Beninde, Untersuchungen über das Vorkommen von Tuberkelbacillen in der Butter. (Zeitschr. f. Hyg. ecc., XXXVIII, 1901).

43. E. V. Ludovici, Il bacillo della tubercolosi nel burro di Napoli. (La Riforma veterinaria, 1901).
44. A. Folli, Bacilli resistenti agli acidi nelle gangrene. (La Riforma medica, XVII, vol. III, 1901).
45. M. Tobler, Beitrag zur Frage des Vorkommens von Tuberkelbacillen und anderen säurefesten Bacillen in der Marktbutter. (Zeitschr. f. Hyg. ecc., XXXVI, 1901).
46. T. Mironescu, Ueber das Vorkommen von tuberkelbacillenähnlichen Bakterien in menschlichen Fäces. (Zeitschr. f. Hyg. ecc., XXXVII, 1901).
47. J. Karlinski, Zur Kenntniss der säurefesten Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. ecc., XXIX, 1901).

# RICERCHE SU DI UN BACILLO DELLA SETTICEMIA EMORRAGICA

## DEI BOVINI

DI

**G. GALEOTTI**

Professore di Patologia Generale nella R. Università di Cagliari

---

Le ricerche da me e da *E. Zardo* recentemente eseguite sovra un microrganismo che per i suoi caratteri si riavvicinava al gruppo dei bacilli della setticemia emorragica e che iniettato sia nello stomaco, sia sotto la cute, sia nel sistema circolatorio, produceva gravi lesioni necrotiche ed emorragiche, prevalentemente localizzate nel tubo gastro-enterico, mi spingono a pubblicare altri esperimenti, da me antecedentemente fatti, con un altro microrganismo analogo a questo adesso ricordato.

Tali esperienze furono compiute a Bombay nel laboratorio bacteriologico municipale e con la collaborazione del maggiore veterinario *James Mills*, direttore del *Government Veterinary College in Bombay* e del dott. *Farmer*, suo assistente. Questo Istituto fornì gli animali necessari per le ricerche che andrò esponendo.

Nel gennaio 1899 si sviluppò in Bombay una epidemia di *Rinderpest*, e il dott. *Mills* ed io pensammo di fare alcune ricerche bacteriologiche sugli animali ammalati che venivano accolti nel *Veterinary College* stesso e nell'Ospedale municipale per i buoi. Si trattava certamente di casi tipici di *Rinderpest*.

Dalle colture fatte con le secrezioni della bocca e degli occhi, con gli essudati delle ulcerazioni boccali o con la poltiglia che ricopriva le ulceri stomacali, ricavai una grande

quantità di microrganismi volgari, per la maggior parte non patogeni. Le colture fatte col sangue di molti buoi a diversi periodi della malattia non dettero, dapprima, resultato positivo, ma poi in quattro casi ottenni un microrganismo che fra poco descriverò e che la prima volta ricavai dal sangue di un capretto infettato con la bile di un bue morto di *Rinderpest.*

Premesse queste brevi notizie passo alla descrizione delle esperienze fatte, quali si trovano notate nei registri del *Veterinary College* e credo opportuno di trascrivere i numeri stessi che si riferiscono agli animali in esperimento.

## Descrizione delle esperienze.

### ESPERIENZE SU GRANDI RUMINANTI.

N. 2. — Bue. Si ammala il 10 gennaio con i sintomi caratteristici della *Rinderpest.* Muore il 14. Alla necroscopia si riscontrano le lesioni abituali della malattia.

N. 12. — Capretto bianco e nero. 14 gennaio. Gli si iniettano sotto la pelle 10 cc. di bile ottenuta dal Bue n. 2. Alla sera la temperatura sale a 104° Fahr. L'animale è abbattuto, rifiuta il cibo. Diarrea sanguinolenta. Muore dopo 8 giorni. Alla necroscopia si trova: il quarto stomaco molto congesto ed ulcerato: il cieco presenta ulcerazioni ed arrossamenti. Enterite diffusa per tutto il tenue. Nei polmoni emorragie sottopleurali ed infarti. Si fanno colture dal sangue del cuore e se ne ottiene il microrganismo che sarà più sotto descritto.

N. 23. — Montone bruno e bianco in buonissime condizioni. Temperatura 103° Fahr. Al 2 febbraio gli si iniettano nella vena dell'orecchio 10 cc. d'una coltura in brodo di 24 ore, ricavata dal n. 12. Alla sera la temperatura sale a 105°,6. L'animale rifiuta il cibo ed è in uno stato di profondo abbattimento. Diarrea. Muore dopo 18 ore dall'iniezione. Alla necroscopia si trova: gastrite emorragica limitata al 4° stomaco: quivi da per tutto la mucosa si distacca in lembi. Infiammazione grave del duodeno e del cieco. Soffusioni emorragiche sottosierose in tutti i visceri dell'addome e del torace. Fegato e milza con stasi. Si fanno culture dal sangue, dalla milza, dal fegato e si riscontra lo stesso microrganismo a cui sopra si è accennato.

N. 24. — Grosso bue giallo in piena salute. Temperatura 101°,2 Fahr. Il giorno 5 febbraio gli si iniettano nella giugulare 10 cc. di coltura di 24 ore ricavata dal n. 23. Al 6 febbraio la temperatura sale a 105°: l'animale non mangia nè rumina, è abbattuto, ha diarrea. Al 10 febbraio la

temperatura scende a 103°, le condizioni generali son sempre cattive. Questo stato perdura per molti giorni, poi l'animale guarisce.

N. 25. — Montone bruno in buone condizioni. Temperatura 103° Fahr. Il 7 febbraio riceve nella giugulare 10 cc. di coltura ricavata dal n. 23. Il giorno dopo l'animale è assai abbattuto, rifiuta il cibo, respira con difficoltà, ha scolo sanguinolento dalle narici; la temperatura sale a 105°, il polso a 140. Muore dopo circa 40 ore dall'iniezione. Edema sottocutaneo. Stravasi sanguigni nei muscoli. Essudato sieroso emorragico nella cavità addominale e pleurale. Duodeno infiammato. Ulcerazioni nella regione pilorica dello stomaco. Fegato da stasi. Nei polmoni soffusioni sottopleurali, infarti ed epatizzazione d'un intiero lobo. Ulcerazioni emorragiche sulla lingua, sulle fauci, sulla glottide e sulla trachea. Culture dal sangue con resultato positivo.

N. 26. — Capra bianca e nera in buone condizioni. Temperatura 103°. 7 febbraio. Le si iniettano, sotto la pelle di una coscia, 10 cc. di coltura in brodo ricavata dal n. 23. Il giorno dopo la temperatura sale a 106°, l'animale è assai abbattuto e rifiuta il cibo. 8 febbraio. Temperatura 104°. Diarrea. Muco sanguinolento nelle feci. Muore il 14 febbraio. Alla necroscopia si trova: liquido sieroso emorragico nel peritoneo e nella pleura. Gastrite ed enterite ulcerosa. Ulcerazioni nella faringe e nella laringe. Si fanno colture dal sangue con resultato positivo.

N. 29. — Montone nero giovane. Temperatura 103° Fahr. Al 15 febbraio gli si iniettano sotto la cute 10 cc. di coltura ricavata dal n. 26 Il giorno dopo la temperatura sale a 105°. È abbattuto, non mangia, ha abbondante scolo nasale; non emette feci. Muore circa 48 ore dopo l'infezione. Alla necroscopia si trova: essudato sieroso emorragico nella cavità peritoneale. Soffusioni emorragiche sottoperitoneali e nella pleura. Gastrite emorragica limitata al 4° stomaco. Infiammazione emorragica della faringe e della laringe. Si fanno colture dal sangue e si ritrae lo stesso microrganismo.

N. 32. — Vacca bianca macchiata di giallo. Temperatura 100° Fahr. Il 19 febbraio le si iniettano nella giugulare 40 cc. di coltura in brodo ricavata dal n. 25. Alla sera la temperatura sale a 104°. Dal 20 febbraio al 9 marzo l'animale resta in condizioni stazionarie. Temperatura febbrile, abbattimento, disturbi gastrici e intestinali. Al 10 marzo compaiono delle ulcerazioni nella bocca, dalle quali scola un secreto sanguinolento. L'animale peggiora considerevolmente e muore il 13 alle 4 ant. Alla necroscopia si trovano le solite alterazioni necrotiche ed emorragiche del tubo gastroenterico e delle sierose.

N. 33. — Pecora bianca e nera. Al 23 febbraio riceve sotto la cute 5 cc. di cultura in brodo ricavato dal n. 23. La temperatura che al momento dell'iniezione era 102° Fahr., sale nella sera a 104°. L'animale si mostra gravemente malato, poi guarisce.

N. 44. — Becco bianco e rosso. 4 marzo. Riceve nella giugulare 20 cc.

di coltura ricavata dal n. 29. Abbattimento, febbre, diarrea, scolo sanguinolento dalla bocca e dal naso. Muore l'8 marzo. Alla necroscopia si trova: gastrite limitata al 4° stomaco, quivi la mucosa appare color vino. Infiammazione emorragica del tenue e del cieco. Polmonite lobulare disseminata. Endocardite. Liquido sieroso emorragico nel pericardio. Soffusioni emorragiche e ulcerazioni nella trachea. Si fanno colture dai polmoni e dal sangue e si ricava il solito microrganismo.

N. 47. — (Infezione spontanea). Bue rosso portato dall'Ospedale municipale il 13 marzo. Cattive condizioni generali: ulceri sanguinolenti nella bocca e nel naso. Emette involontariamente feci sanguinolenti. Temperatura 103°. Muore il giorno appresso. Alla necroscopia si trova: gastrite limitata al 4° stomaco. Infiammazione emorragica di tutta la mucosa intestinale con ulcerazioni del cieco. Nei polmoni suffusioni sottosierose e aree di epatizzazione bruna. Si fanno colture dal sangue e se ne ricava il solito microrganismo.

N. 48. — (Infezione spontanea). Bue grigio portato dall'Ospedale municipale il 13 marzo. Condizioni generali cattivissime. Ulcerazioni della bocca e del naso. Feci liquide e sanguinolenti. Si fanno colture col sangue preso dalla giugulare dell'animale ancor vivo. Resultato positivo.

N. 53. — Pecora nera. Il 18 marzo le si iniettano nell'arteria femorale 20 cc. di una coltura in brodo ricavata dal n. 47. Alla sera la temperatura sale a 104° Fahr. e l'animale muore dopo 14 ore dall'iniezione. Alla necroscopia si trova. Essudato sieroso emorragico nel peritoneo e nella pleura. Suffusioni sanguigne sulla superficie dei visceri. Mucosa dello stomaco e dell'intestino fortemente arrossata. Si fanno colture dal sangue con resultato positivo.

N. 78/98 dell'Ospedale municipale. — (Infezione spontanea). Bue. 26 marzo. Malato da 6 giorni. Gravi ulcerazioni in bocca e sulla lingua. Diarrea sanguinolenta, febbre, abbattimento profondo. Si fanno colture col sangue preso da una vena cutanea, e si ritrova il solito bacterio.

N. 99/98 dell'Ospedale municipale. — (Infezione spontanea). Bue. 27 marzo. Malato da 6 giorni con ulcerazioni nella bocca, scolo emorragico dal naso. Diarrea sanguinolenta e febbre. Muore il 27 sera. Alla necroscopia si riscontrano lesioni ulcerative ed emorragiche dello stomaco, dell'intestino e delle vie respiratorie. Le colture fatte col sangue del cuore mostrano lo sviluppo del solito microrganismo.

## ESPERIENZE CON PICCOLI ANIMALI.

*Polli e piccioni* iniettati sotto la pelle del petto con $^1/_2$ cc. della stessa coltura in brodo che aveva ucciso in 14 ore la pecora n. 53, non sembrarono affatto ammalati.

*Topi bianchi* e *topi delle chiaviche* iniettati nel peritoneo o sotto cute con $^1/_{10}$–$^1/_2$ cc. della stessa coltura non ammalarono.

*Coniglio 1°.* — Iniettato nel peritoneo con $^1/_2$ cc. di coltura in brodo. Muore in 24 ore. Alla necroscopia si riscontrano lesioni ulcerative ed arrossamento della mucosa stomacale ed intestinale. Piccole emorragie disseminate, sotto sierose nei vari organi dell'addome e del petto. Infarti polmonari.

*Coniglio 2°.* — Iniettato sotto la cute con $^1/_2$ cc. di coltura. Muore entro 48 ore. Alla necroscopia si riscontrano un forte edema della pelle e le solite lesioni emorragiche nelle sierose. Emorragie interstiziali in vari muscoli degli arti.

*Coniglio 3°.* — Iniettato nella vena dell'orecchio con $^1/_2$ cc. Morte in 18 ore. Alla necroscopia si trovano numerosi infarti polmonari. Fegato e milza da stasi. Peritoneo, pleura e pericardio arrossiti.

## PROPRIETÀ BIOLOGICHE DEL MICRORGANISMO.

Il microrganismo che fu ritrovato in tutti i casi sovradescritti aveva i seguenti caratteri:

*Forma, grandezza, colorabilità* — È un bacillo corto ad estremità arrotondate, delle dimensioni di circa $3{,}8 \times 1{,}6$ μ, uniformemente colorabile con i vari colori di anilina. Non resiste al Gram. Non si unisce in filamenti. Ha movimenti propri, sebbene non molto vivaci. Non forma spore. Nei preparati fatti con colture vecchie si vedono molte forme degenerative, consistenti in cellule assai rigonfie, sformate, poco o punto colorabili. Nelle colonie giovani, trasparenti, che ora descriverò, non si riscontrano queste forme degenerative, mentre nelle colonie che hanno acquistato un aspetto opaco, le forme degenerative sono abbondantissime.

*Condizioni di sviluppo.* — Questo microrganismo è preferentemente aerobio, tuttavia si sviluppa anche anaerobicamente. L'ottimo di temperatura per le colture è un po' al di sotto della temperatura del corpo, cioè fra 30° e 32°; tuttavia si sviluppa, sebbene meno rigogliosamente anche a 37°.

*Proprietà culturali.* — *Sulle piastre di agar*, dopo 24 ore, si formano piccole colonie trasparenti come goccioline d'acqua: talvolta sono un po' fluorescenti. Nelle successive 24 ore au-

mentano in estensione e divengono bianche opache, senza riflessi madreperlacei. Son rotonde, a margini netti, omogenee. Le singole colonie raggiungono il diametro di 4-5 mm. poi non crescono più. Dopo 3 o 4 giorni acquistano un colorito bruno, più intenso nel centro.

*Nei tubi di agar a becco di flauto*, innestati per strisciamento, si mostrano, già dopo 12 ore, numerosissime colonie puntiformi, trasparenti, che più tardi confluiscono e formano una patina uniforme bianca opaca. Dopo 2 o 3 giorni nei punti ove la vegetazione è stata più intensa compaiono delle macchie giallo-brune. Così la coltura assume un aspetto chiazzato veramente caratteristico.

*Tubi di agar in alto strato.* — Sviluppo abbondante alla superficie. Lungo il canale di innesto si hanno piccole colonie che non si diffondono nel terreno nutritizio.

*Siero di sangue.* — Piccole colonie dapprima trasparenti, poi opache. Ingrandiscono pochissimo e non confluiscono.

*Brodo.* — Dopo 24 ore il brodo è uniformemente torbido: poi si formano fiocchi mucillagginosi che si depositano al fondo del tubo.

Non potei fare colture in gelatina per l'alta temperatura ambiente del laboratorio.

Nelle *patate* non si ha sviluppo.

* * *

Da quanto sopra è stato esposto resulta chiaramente che il microrganismo ricavato dai cinque buoi (N. 2, N. 47, N. 48, N. 78-98, N. 99/98) ammalati di *Rinderpest* somiglia assai, per i suoi caratteri morfologici e culturali e per le lesioni anatomo-patologiche che produce, ad altri designati col nome di bacilli della setticemia emorragia, ed anche a quello che da me e da *Zardo* fu isolato da certi molluschi. Tali lesioni anatomo-patologiche sono specialmente localizzate nelle mucose di tutto il tubo gastro-enterico e si presentano come erosioni od ulcerazioni necrotiche, accompagnate da larghe e profonde infiltrazioni emorragiche. Anche in altri luoghi, e specialmente nelle sierose si sono riscontrate tali infiltrazioni emorragiche e lesioni circo-

latorie più o meno gravi, quali iperemia passiva (fegato, milza) ed infarti (polmone). Insomma questo microrganismo appartiene ad un gruppo di bacteri, di cui le proprietà patogenetiche consistono in un' azione necrotizzante su certi epiteli e sul sistema circolatorio in genere. Di più è da notarsi in questo microrganismo la grande virulenza e la rapidità di azione, poichè pochi cc. di cultura sono stati talvolta sufficienti ad uccidere in poche ore (14-18 ore) animali assai grossi e robusti.

Ora la domanda che si presenta naturalmente in riguardo a questo microrganismo è la seguente: qual rapporto esso ha con la *Rinderpest*?

Naturalmente non metto neppure in questione che si tratti dell' agente specifico di questa malattia [1]. Le numerose ricerche bacteriologiche fatte da vari autori sulla *Rinderpest* hanno ormai dato una risposta decisiva su tale argomento. Io stesso ho potuto isolare questo bacterio in soli cinque casi, mentre in tutti gli altri la ricerca bacteriologica del sangue non dette alcun risultato.

Premesso ciò si possono fare due ipotesi: o che si tratti di una infezione secondaria, che cioè il microrganismo da me isolato infetti animali già ammalati di *Rinderpest* e vegeti rigogliosamente in essi, ovvero che nei casi in cui fu da me riscontrato tale bacterio non si tratti di *Rinderpest*, ma di una setticemia emorragica. Infatti i sintomi clinici e le lesioni anatomo-patologiche degli animali infettati con le colture erano somigliantissimi, per non dire identici, a quelli della vera *Rin-*

---

[1] Alcuni autori trovarono negli animali malati di *Rinderpest* certi batteri ed affermarono che essi eran l'agente specifico dalla malattia. Così *Simpson* in Calcutta isolò un microrganismo dalla bile di buoi morti di *Rinderpest* ed un analogo reperto fu pubblicato da *Edington*. Altri microrganismi furono trovati da *Nencki*, *Sieber* e *Wyznikiewicz*.

Da *Semmer* e da *Arkangelski* furono anche descritti dei micrococchi, da *Metschnikoff* e da *Gamaleia* dei bacilli simili a quelli del tifo addominale. *Tokishige* isolò e coltivò un bacillo (*B. Pestis Bovinae*) simile a un diplococco.

Ma poi le ricerche di *Koch*, di *Bordet*, di *Danisz*, di *Kolle*, di *Turner*, di *Rogers*, di *Nicolle*, di *Tartakowsky* dimostrarono che nessuno dei bacteri sovraccennati è l'agente specifico della malattia, e che ancora è totalmente sconosciuto l'elemento etiologico di quest' infezione.

*derpest* (¹) tantochè veterinari sperimentati come il dott. *Mills*, il dott. *Farmer* ed altri, i quali avevano avuto occasione di osservare centinaia e centinaia di casi di *Rinderpest*, non potevano differenziare, nè all'esame dell'animale ammalato, nè al tavolo anatomico, i casi di *Rinderpest* genuina dalla malattia che io avevo sperimentalmente prodotto con l'iniezione endovenosa o sottocutanea delle colture sovradescritte (²).

Mi sembra dunque più probabile la seconda ipotesi, la quale è anche rafforzata dal fatto che anche in altri luoghi e in altri tempi sono state riscontrate nei bovini epidemie di malattie setticoemiche con manifestazioni emorragiche (³), e

(¹) *Janson* ebbe occasione di studiare in Giappone una malattia dei bovini somigliantissima alla *Rinderpest*, e solo differenziabile da questa per certi sintomi di secondaria importanza. Nel sangue degli animali ammalati riscontrò dei bacilli isolati, immobili, assai grossi. Le culture di essi riuscirono solo in pochi casi. *Van Eecke* nelle Indie Olandesi studiò una malattia epidemica dei buoi, che certamente era una forma di setticemia emorragica, mentre egli la diagnosticò come una *Rinderpest* complicata da edemi cutanei.

(²) Per vedere quanto le lesioni anatomo-patologiche dei casi sperimentali sovradescritti somiglino alle lesioni anatomiche della *Rinderpest* genuina, trascrivo dal Rapporto ufficiale del dott. *Lingard* (*The Agricultural Ledger*, Calcutta, 1898, n° 5) i due seguenti reperti di autopsie eseguite su bufali morti di *Rinderpest*.

« Post Mortem appearances of Buffalo n. 4 fed on dung and blood from a case of Rinderpest and destroyed on the 7th September 1897.

*Mouth*. Erosions. — *Pharynx*. Erosions whith brany deposits and gelatinous effusions. — *Larynx and Trachea*. Normal. — *Lungs*. Congested and emphysematous. — *Heart*. Normal. — *Stomachs*. Only the last stomach congested and the mucous membrane thickned. — *Intestines*. Small intestine congested with croupous membranes, caecum was congested with numbers of croupous membranes. Large intestines were exanthematous with fibrinous casts and rectum with stripes and patches and the mucous membrane thickened. — *Spleen and Liver*. Congested and gall bladder venous congested, the mucous membrane thickened with petichea. — *Kidneys*. Slightly congested with serous effusions in and around ».

« Post Mortem appearances of Buffalo N. 5 fed on dung and blood of *Rinderpest*. On the 9th september 1897.

*Mouth*. Normal. — *Pharynx*. Slight brany deposit. — *Larynx* and *Trachea*. Normal. — *Lungs*. Emphysematous and congested anteriorily. — *Heart*. Ecchymosis on the endocardium of left ventricle. — *Stomachs*. First three stomachs normal and the fourth one considerably congested and thickened with two erosions. — *Intestines*. Small intestines congested and yellowish in places. Mucous membrane thickened and Peyer's patches enlarged. Caecum and large colon slightly congested with streaks. — *Liver*. Congested and gall bladder congested with ecchymotic spots ».

(³) Intorno a queste epidemie dei bovini trovo opportuno ricordare quanto segue: *Bollinger* nel 1878 descrisse per la prima volta una epizoozia che si sviluppò tra i cignali ed i cervi di un parco vicino a Monaco e si propagò

che queste epidemie furono talvolta confuse con la *Rinderpest* genuina.

---

poi ai bovini dei luoghi circostanti. Egli dette a questa malattia il nome di *Wildseuche*. *Hueppe* propose poi di designare tale forma morbosa col nome generico di *Septicoemia haemorrhagica*, nome che anche adesso è universalmente accettato. *Kitt* trovò che questa malattia è identica alla peste dei cavalli e dei porci (*Pferdseuche* e *Schweineseuche*).

Anche il così detto Barbone dei bufali (di cui la etiologia fu per la prima volta studiata da *Oreste* e *Armanni*) si deve riunire a queste forme epidemiche dei bovini e così pure la *cornstalk disease* descritta da *Billings* e *Nocard* e la *Kälberseptikaemia* di *Jensen*.

Secondo alcuni autori (e specialmente secondo *Hueppe* e *Voges*) i microrganismi che furon riconosciuti quali agenti specifici di queste malattie sono eguali tra loro ed eguali anche ai bacteri del colera dei polli, della setticemia dei conigli ecc. Le variazioni morfologiche e biologiche (descritte dai varî autori) si dovrebbero interpretare come dipendenti dall'adattamento di una unica specie alle differenze nella composizione dei terreni nutritizî e nelle altre condizioni di vita. In ogni caso, secondo *Voges*, queste oscillazioni dei caratteri morfologici non escono dal campo della costanza della specie. Il carattere differenziale più importante è la motilità, poichè alcuni di questi microrganismi hanno movimenti proprî, altri sono totalmente immobili.

Su questo proposito mi sembra opportuno riunire nello specchietto seguente le varie malattie del tipo della setticemia emorragica.

| Nome della Malattia | Autore | Motilità o no del microrganismo specifico |
|---|---|---|
| Wildseuche.<br>Rinderseuche. | Bollinger. | Immobile. |
| Rinderseuche.<br>Pferdeseuche.<br>Schweineseuche. | Kitt. | Immobile. |
| Barbone. | Oreste e Armanni. | Immobile. |
| Pleuro-pneumonie der Kalveren. | Poels. | Immobile. |
| Kälberseptikaemie. | Jensen. | Immobile. |
| Schweineseuche. | Loeffler-Schütz. | Immobile. |
| Swine-plague. | Salmon-Smith. | Immobile. |
| Hog-cholera. | Billings. | Mobile. |
| Pneumoentérite des porcs. | Chantmesse, Cornil. | Mobile. |
| Kaninchenseptikaemie. | Koch, Gaffky. | Mobile. |
| Cholera der Steinhühner. | Karlinski. | Mobile. |
| Choléra des canards. | Cornil-Toupet. | Mobile. |
| Cornstalk disease. | Billings, Nocard. | Mobile. |
| Hog-cholera. | Salmon-Smith. | Mobile. |
| Swine-plague. | Billings. | Mobile. |
| Schweinepest. | Selander. | Mobile. |
| Swine-fever.<br>Grouse-disease. | Klein. | Mobile. |
| Pneumoentérite des porcs. | Rietsch-Jobert. | Mobile, |
| Schweinepest. | Deupser. | Mobile. |
| Frettchenseuche. | Eberth, Schimmelbosch. | Mobile. |

È quindi probabile che le mortalità dei bovini che si osservano periodicamente in Bombay, non sian dovute soltanto alla *Rinderpest*, ma anche ad infezioni determinate dal microrganismo sovradescritto.

Su tal rapporto avrebbe avuto un certo interesse pratico il proseguire queste ricerche, ed era mia intenzione farlo, quando dovetti partire da Bombay. Tuttavia mi sembra che anche queste esperienze incompiute non siano totalmente prive di interesse quale contributo alla conoscenza di questi microrganismi delle setticemie emorragiche ancor poco conosciuti, e che, mentre posseggono somiglianti caratteri morfologici, colturali e patogenetici, hanno provenienze differentissime, e per varie vie producono infezioni assai gravi e quasi sempre mortali.

## Bibliografia.

GALEOTTI E ZARDO, Su di un microrganismo patogeno isolato del *Murex Bradatus*. (Lo Sperimentale, 1902; Centralbl. f. Bakter., Vol. XXXI, n. 13).

NENCKI, SIEBER u. WYZNIKIEVICZ, Untersuchungen über die Rinderpest. (Centralbl. f. Bakt., XXIII, N. 13),

— Ueber die Rinderpest. (Berlin. Klin. Wochenschr., 1897, N. 24).

— Recherches sur la peste bovine. (Arch. des sciences biol. St. Petersbourg, 1898, Vol. VI, p. 374, e 1899, Vol. VII, p. 303).

TOKISHIGE, Bacillus pestis bovinae. (Berliner tierärztl. Wochschr., 1893, p. 74).

METSCHNIKOFF, Bericht über die Untersuchungen betreffend das Rinderpestcontagium. (Riassunto nel Centralbl. f. Bakt., II, 1887, p. 633).

GAMELEIA, Ueber die Experimente zur Erforschung der Rinderpest. (Ibidem).

TARTAKOWSKY, Contribution à l'étiologie de la peste bovine. (Arch. des Sciences Biologique de St. Petersbourg, Vol. 4, N. 3, p. 295).

KOLLE, Rinderpest. (Ergebnisse der allg. Pathol., Anno VI, 1899, p. 470).

JANSEN, Eine neue Rinderseuche. (Berliner tierärztliche Wochenschrift, p. 178, 1897).

VAN EECKE, Jahresberichte über die Leistungen aus dem Gebiet der Veter. Med., XII, p. 73. (Riassunto).

LINGARD, The Agricultural Ledger. (Calcutta. 1898, N. 5).

BOLLINGER, Ueber eine neue Wild-und Rinderseuche, welche in Sommer 1878 in der Umgebung von München beobachtet wurde. (München, Finsterlin, 1878).

KITL, Ueber eine experimentelle der Rinderseuche (Bollinger) ähnliche Infectionskrankheit. (Sitzungsber. der Gesell. f. Morph. u. Phys. in München, 1885, H. 3).

ORESTE e ARMANNI, Studi e ricerche intorno al barbone dei bufali. (Atti del reale Istituto di incoraggiamento alle scienze naturali in Napoli, 3ª serie, Vol. VI, n. 1).

BILLINGS, The corn-stalk disease in cattle. Investigations of cattle diseases in Nebraske, Vol. III, 1889, p. 163. (Riassunto nei Baumgarten's Jahresberichte, 1889, p. 179).

NOCARD. Une broncho-pneumonie infectieuse des boeufs américains. (The corn-stalk disease). (Bulletin de la Société centrale de Méd. Vétér., Vol. XLV, 1891).

JENSEN, Ueber eine der Rinderseuche ähnliche Kälberkrankheit. (Monatshefte f. prakt. Tierheilk., II, 1891, N. 1).

VOGES, Kritische Studien und experimentelle Untersuchungen über die Bacterien der hämorragischen Septikämie und die durch sie bewirkten Krankheitsformen. (Zeitschr. f. Hygiene, Vol. 22, p. 149).

Altre notizie bibliografiche su questo argomento, come pure le citazioni che riguardano gli autori ricordati nello specchietto a pag. 553 si possono trovare nei Baumgarten's Jahresberichte: anno 1886, pag. 142; anno 1887, pag. 122; anno 1888, pag. 126; anno 1889, pag. 173; anno 1890, pag. 175; anno 1891, pag. 177; anno 1892, p. 136; anno 1894, pag. 152; anno 1896, pag. 184; anno 1897, pag. 208; anno 1898, p. 195.

# RENDICONTI

DELLE

# ADUNANZE DELL' ACCADEMIA MEDICO-FISICA FIORENTINA

## Resoconto sommario delle sedute.

### Adunanza pubblica del dì 13 Maggio 1902.

Presiede il Prof. G. FANO, *Presidente.*

Sono presenti i Soci: Azzurrini, Banchi, Bottazzi, Chiarugi, Comba, Giarrè, Giuntoli, Lustig, Livini, Ligorio, Levi, Picchi, Pacchioni, Pellizzari, Radaeli, Raspini, Salaghi, Toti.

**Dott. M. Salaghi.** — *Dell' etiologia del piede varo-equino congenito* (con presentazione di due casi).

L' O. combatte le teorie che in modo esclusivo vogliono spiegare l' origine del piede varo-equino congenito comune (al quale non appartengono le rare varietà dipendenti da assenza congenita della tibia, da spina bifida, le paralitiche e altre). Così la teoria che attribuisce la deformità del piede a lesioni primitive del sistema nervoso centrale deve considerarsi come infondata: quella che vorrebbe spiegarla per la non avvenuta o la ritardata rotazione interna degli arti inferiori durante un periodo tardivo della vita intra-uterina non è sufficientemente provata, e rappresenta anzi una petizione di principio. La teoria che pone la causa in traumi avvenuti durante la gravidanza o il parto, o in avvolgimento del cordone ombelicale intorno al piede, non può valere che in casi eccezionali nei quali i traumi stessi siano provati; infine l' opinione di Lazarus che considera il varo-equino congenito come la permanenza di un' attitudine supinata propria del piede in un periodo remoto della vita fetale non vale, non bastando la supinazione per costituire la nozione clinica del piede torto.

L' O. giunge perciò alla conclusione che l' etiologia e patogenesi del piede varo-equino congenito risalgono a due cause ben distinte.

Nella maggioranza dei casi la cagione è riposta in un'anomalia primitiva del germe, come è provato dall'eredità della deformità ripetuta anche per più generazioni nella stessa famiglia, dal trovarsi essa unica senza che vi sian tracce di costrizione amniotica, dall'esser del doppio più frequente nei maschi che nelle femmine, più spesso bilaterale, e più frequente a destra che a sinistra nei casi semplici. Si aggiunge una ragione filogenetica convalidata dai caratteri anatomici del piede torto varo-equino, onde questo può esser considerato come una specie di regressione atavica verso la famiglia dei primati.

In un certo numero di casi peraltro la causa meccanica è provata, o è resa sommamente probabile dalla coesistenza nello stesso soggetto di altre deformità dovute a tale causa; questo appunto sarebbe il secondo gruppo dei varo-equini congeniti assai meno frequenti dei primi, e che vi appartengono solo in quanto la loro origine meccanica è dimostrata volta per volta L'O. osservò 3 casi di questo genere, dei quali 2 sono presentati alla Società.

In un 1° caso riguardante una bambina che aveva un mese, quando fu veduta nell'ottobre 1900 (C. S. di Bagno a Ripoli) vi era un varo-equino non grave a destra, dallo stesso lato la mano presentava amputazione e solchi congeniti di alcune falangi, e sindactilia cutanea tra due dita; vi era pur differenza di lunghezza fra gli arti, tanto superiori che interiori.

In un 2° caso (presentato) che fu sottoposto a cura meccanica sino dall'aprile 1901 (bimba di 28 mesi, G. R. da Rifredi), si osserva piede varo-equino grave a sinistra: le due mani sono torte in senso ulnare e dorsale, le ultime 4 dita deviate in direzione ulnare nelle articolazioni metacarpo-falangee, vi è clinodactilia radiale del dito medio, le eminenze antitenari sono appiattite lateralmente; e i pollici, specie il destro, son mantenuti in adduzione da una briglia connettivale sottocutanea, mentre le altre dita son semiflesse, ma si raddrizzano facilmente. Vi è poi sul dorso del piede sinistro, al lato esterno, una fossetta cutanea con aderenza della pelle al suo substrato. È ragionevole di ammettere qui un'unica causa meccanica per spiegare le due deformità; quella delle mani e del piede, vale a dire la pressione di una briglia o membrana amniotica durante la vita fetale per ristrettezza assoluta o relativa del sacco amniotico, cioè per arresto di sviluppo dell'amnios o per scarsità di liquido amniotico.

Il 3° caso, presentato, (Ch. G. di 5 mesi, del Comune di Lastra a Signa) ha un piede varo-equino non grave a sinistra e piede talo-varo e piano congenito a destra; tentando la correzione dell'ultimo, fa resistenza il tendine del tibiale anteriore. Anche qui l'azione meccanica è la sola plausibile, spiegandosi la deformità dell'un piede per quella dell'altro, stante un presunto eccesso di pressione intrauterina, e la posizione fisiologica incrociata tenuta dai piedi nell'utero durante l'ultimo periodo

della gravidanza, mentre le coscie sono flesse sul bacino e le gambe flesse sulle coscie.

**Chiarugi.** Domanda al dott. Salaghi se egli non crede che in alcuni casi le alterazioni congenite del piede possano essere in rapporto con una anomalia di sviluppo del midollo spinale, con una spina bifida occulta.

**Salaghi.** Alla obbiezione fatta dal prof. Chiarugi, se il piede varo-equino di origine non meccanica non possa esser cagionato da una spina bifida occulta, l'O. risponde che la spina bifida occulta nell'uomo è assai rara, mentre il piede varo-equino congenito è una delle più frequenti deformità. D'altra parte la spina bifida occulta si tradisce quasi sempre per alcuni segni che ne permettono la diagnosi, sopratutto per l'ipertricosi che si osserva in corrispondenza del difetto degli archi. La spina bifida occulta non rappresenta un'entità anatomo-patologica, potendo tanto il meningocele spinale che il mielocistocele rivestire questa forma. Ora il mielocistocele si combina spesso con curvature anormali della rachide; pel meningocele poi mal si comprende che la pressione del liquido contenuto nel sacco possa dar luogo ad una lesione circoscritta del midollo, piuttosto che ad una compressione diffusa di esso con corrispondenti fatti paralitici.

**Chiarugi.** Fece l'ipotesi che lesioni del midollo spinale possano essere la causa di deformità congenite del piede, poichè da ricerche sperimentali su animali risulta che la spina bifida si può riparare apparentemente in modo completo. Potrebbe quindi darsi che talvolta anche nell'uomo ciò possa avvenire, e che in alcuni casi rimangano malformazioni minime del midollo spinale colle quali si potrebbero mettere in rapporto le deformità congenite dei piedi. Per chiarire questo punto egli raccomanda uno studio istologico completo del sistema nervoso centrale nei casi di piede varo-equino congenito, che verranno al tavolo anatomico.

**Salaghi.** Si associa di buon grado a questa raccomandazione del prof. Chiarugi.

*Il Segretario degli Atti*
C. Comba.

## Adunanza pubblica del dì 20 Maggio 1902.

Presiede il Prof. E. PESTALOZZA, *Vice-Presidente.*

Sono presenti i Soci: Azzurrini, Banti, Bardelli, Bessone, Bottazzi, Bufalini, Caccia, Capei M., Chiarugi, Cocchi, Colzi, Comba, Corsini, Fairman, Filippi, Giarrè, Giuntoli, Levi, Ligorio, Livini, Lustig, Mya, Pacchioni, Pestalozza, Picchi, Tonarelli.

**Dottori C. Giarrè e L. Picchi.** — *Ricerche batteriologiche su alcune complicanze del morbillo.* (Comunicazione fatta dal **Dott. Picchi** con presentazione di culture e di preparati microscopici).

Per continuare le ricerche sui morbillosi da noi intraprese da molto tempo e delle quali abbiamo a questa Accademia comunicato i risultati nel maggio 1900, noi in questo inverno siamo stati favoriti dalla straordinaria epidemia verificatasi in Firenze.

Il materiale per questo studio ci è stato, nella maggior parte, fornito dai malati del padiglione di isolamento dell'ospedale Meyer, e qui ci è caro ringraziare il prof. Mya direttore della Clinica Pediatrica che ci ha concesso di usufruire dei suoi malati per questo studio. Ma non è dei risultati totali che oggi vogliamo occuparci, bensì di quelli di alcune ricerche speciali, eseguite su complicanze mortali del morbillo. Scopo delle nostre ricerche è stato quello di vedere se in questi casi continuava la presenza frequente di quel bacillo da noi descritto fino dal 23-30 maggio 1900, caratterizzato dalla sua coltivabilità su terreni emoglobinati e che allora non azzardammo di classificare.

Per queste ricerche noi abbiamo usato di agar lievemente alcalino, sul quale abbiamo steso non sangue di piccione puro, ma sangue di piccione prima disciolto in brodo, e ciò per il doppio scopo di avere liquido in fondo al tubo bastante per ben eseguire le disseminazioni, e liscia la superficie dell'agar, libera dai tanto incomodi depositi di fibrina e sangue coagulato. Con questo mezzo noi abbiamo anche raggiunto un vantaggio economico perchè col sangue di un unico piccione noi abbiamo potuto preparare oltre 200 tubi di cultura.

Oltre che con l'agar sangue e con l'agar semplice noi abbiamo spesso praticato culture di confronto con l'agar semplice senza peptone preparato col metodo del Lesage. Notiamo subito come sui tubi di questo terreno, seminati con gli stessi liquidi tratti dal cadavere, abbiamo avuto lo sviluppo di tutte le specie batteriche da noi viste nascere sui corrispondenti terreni insanguinati, meno quello speciale bacillo emofilo oggetto dei nostri studi.

Una sola volta (oss. IV) ci è stato dato osservare su di un tubo di agar Lesage inoculato con pus bronchiale diluito in brodo, uno sviluppo di scarse colonie minutissime di un bacillo non resistente al Gram, passeggiando dopo 24 ore una goccia di sangue sulla superficie di questo tubo si ebbe rigoglioso sviluppo delle caratteristiche colonie.

Usando dunque agar emoglobinato noi abbiamo praticato esami batteriologici su 20 cadaveri, 16 di individui morti per complicanze del morbillo o in seguito al morbillo, 4 di altre malattie e questi per controllo.

Noi per semplicizzare l'esposizione dei risultati abbiamo divisi questi malati in varie serie. In una 1ª serie di 5 casi di semplice bronco-polmonite morbillosa noi abbiamo esaminato il sangue 3 volte e 3 volte non abbiamo ritrovato il bacillo da noi cercato: 3 volte il succo bronchiale sempre con esito positivo, una volta il succo polmonare con esito positivo esso pure. Non ci occupiamo ora delle ricerche che erano state fatte su le congiuntive e muco nasale nei vivi.

In una 2ª serie noi abbiamo riuniti 3 casi nei quali oltre la bronco-polmonite esisteva anche laringite: in essi noi abbiamo esaminato 1 volta il sangue del cuore con esito negativo, 2 volte il secreto dei bronchi con esito positivo, e sviluppo abbondantissimo del bacillo tutte due le volte.

Tre casi di pleurite fibrinosa complicante la bronco-polmonite formano la 3ª serie, in questi noi abbiamo ottenuti sempre risultati positivi esaminando 2 volte la pleura, 1 volta il succo polmonare.

Alla 4ª serie appartengono tre casi nei quali, oltre la pleurite, esisteva anche pericardite: in essi noi abbiamo esaminato 3 volte il muco bronchiale con 2 esiti positivi e 1 negativo, perchè lo sviluppo eccessivo dello staffilococco aureo ci ha impedito di vedere se esistevano colonie di altra natura, 2 volte la pleura con 2 esiti positivi uno dei quali puro, due volte il pericardio con un esito positivo e uno negativo, una volta il sangue con un esito positivo.

Nella 5ª serie rientra un solo caso nel quale oltre la bronco-polmonite e la pleurite esisteva anche meningite cerebro-spinale; in esso tanto il pus pleurico quanto quello delle meningi contenevano puro questo bacillo.

Come componente unico di una serie sesta noi abbiamo un caso (oss. XIX) che oltre alla bronco-polmonite presentava ascessi polmonari, nel pus degli ascessi, in gran maggioranza, esisteva il bacillo da noi ricercato.

Nell'ultimo gruppo noi uniamo i quattro casi, due di difterite laringea, uno di noma, uno di meningite cerebro spinale, nei quali le culture praticate sia dai pus pleurici (tre volte) che dagli accessi peribronchiali (una volta) e dal pus meningeo (una volta) hanno dato risultato negativo.

Riassumendo noi abbiamo praticati:

— 8 esami da muco bronchiale con 7 risultati positivi, 1 negativo.
— 2 esami da succo polmonare ambedue positivi.
— 4 dal sangue del cuore con 3 negativi e 1 positivo.
— 5 dal contenuto pleurico con 5 esami positivi, 2 dei quali puri.
— 2 esami dal pericardio con 1 esito positivo e 1 negativo.
— 1 dal pus ascessale con 1 positivo.
— 1 dalla meninge con 1 positivo puro.

Nelle esperienze poi di controllo noi abbiamo che in 7 esami, 3 dei quali dal pus pleurico, sempre il risultato è stato negativo.

Il bacillo da noi isolato presenta i caratteri che descrivemmo nel Maggio 1900: circa la sua vitalità dobbiamo notare che è sempre assai debole per quanto ci sia riuscito di ottener trapianti da tubi (di un solo caso) dopo 20 giorni di permanenza nel termostato.

Abbiamo provata la reazione agglutinante col siero di due sangui, di un morto e di un guarito, senza risultato apprezzabile.

Abbiamo inoltre sperimentata la virulenza sua sui soliti animali di laboratorio, prendendolo da fonti diverse, 6 campioni da occhi, uno dei quali gentilmente favoritoci dal dott. Cionini, assistente della Clinica Medica di Pisa, 5 da bronchi, 2 da pleure, 1 dalla meninge, 1 da ascesso polmonare. Questi vari campioni si sono dimostrati di virulenza variabile non in rapporto con la loro origine, perchè abbiamo ottenuti risultati negativi tanto da occhi come da bronchi e dall'ascesso polmonare, mentre altri campioni dagli occhi, dai bronchi, pleure e meninge si sono dimostrati virulenti.

Noi abbiamo sperimentate varie vie d'infezione l'intracranica, tracheale, endovenosa e sottocutanea nel coniglio, peritoneale nel topo, sottocutanea e peritoneale nella cavia, tracheale, congiuntivale e nasale in due scimmie sajou.

Dall'iniezione sottocutanea ne è risultato un ascesso a decorso lento, guaribile spontaneamente e nel pus del medesimo, incidendolo dopo 6-7 giorni, abbiamo potuto vedere e ricoltivare il bacillo inoculato, esaminandolo invece dopo 15-20 giorni si è mostrato completamente sterile. Nel peritoneo del topo ha data la morte in 48 ore con peritonite e presenza del microrganismo nel peritoneo e nel sangue. Nel peritoneo della cavia, inoculato in piccola dose, non ha dato risultato, inoculato invece in dose più forte, 1 $^1/_2$ tubi di cultura di 24 ore, ha data la morte in un periodo di tempo variabile da 24 a 48 ore, con fenomeni di peritonite, qualche volta emorragica e sempre è stato possibile ricoltivarlo dal sangue.

Nel coniglio l'inoculazione sottodurale di una goccia di cultura non ha dato in due prove alcun risultato, la cultura proveniva da un occhio.

Nella vena dell'orecchio nella dose di due tubi, ha prodotta la morte con fenomeni del sistema nervoso in un periodo di 16-18 ore, nel cadavere abbiamo ritrovato tumefazione della mucosa e degli apparati lin-

fatici nell' intestino, punteggiature emorragiche specialmente nell' appendice, lesioni cellulari nel fegato, nei reni e nel sistema nervoso centrale.

Le culture e l'esame diretto hanno dimostrata chiaramente la diffusione del microrganismo a tutti i visceri, abbiamo infatti ottenuti risultati positivi dal sangue del cuore, fegato, rene, milza, succo peritoneale, midollo osseo e cervello.

Questi risultati sul coniglio sono stati ottenuti con campioni provenienti 2 dalla pleura, 1 dalla meninge.

Nelle scimmie abbiamo notato soltanto un rialzo termico passeggero anche con l' inoculazione in trachea.

L' inoculazione nella trachea del coniglio, non ci ha per ora dato alcun risultato.

I caratteri morfologici culturali e biologici che noi abbiamo per ora potuto riscontrare in questo bacillo, sebbene non ci permettano conclusioni molto recise, pure ci invitano assai a ritenerlo molto simile, se non proprio uguale a quello descritto da Pfeiffer come agente dell' influenza.

Noi abbiamo creduto non senza interesse per l'Accademia render noti questi risultati delle nostre ricerche perchè sia possibile, mettendo altri sulla strada da noi percorsa, un controllo e una conferma delle nostre osservazioni.

**Mya.** Siccome nella maggior parte dei casi, e sopratutto nelle polisierositi fibrino-purulente postmorbillose, che furono oggetto d'indagine batteriologica sui pezzi anatomici dai dottori Picchi e Giarrè, vennero istituite ricerche batteriologiche in vita, durante la loro degenza nella Clinica da me diretta, prego il sig. Presidente di voler dare la parola al mio assistente, dott. Pacchioni, cui tali ricerche vennero affidate; acciò egli faccia una comunicazione su questo argomento.

**Dott. Dante Pacchioni.** — *Ricerche batteriologiche nel morbillo.*

In rapporto alla comunicazione dei dottori Giarrè e Picchi riferisco succintamente i resultati di alcune ricerche batteriologiche, che ho eseguito durante la passata epidemia di morbillo.

Le indagini sono state eseguite in vita e dopo morte. Nel pus di due casi di pleurite purulenta, associata a pericardite, e in uno di sola pleurite purulenta, ho ritrovato anche io un microrganismo molto simile a quello di Pfeiffer, una volta in cultura pura. Lo stesso microrganismo rinvenni per 5 volte nel sangue del cuore, una volta in cultura pura. Importante fu il reperto del bacillo suddetto in cultura pura in un caso di pleurite purulenta e meningite cerebro-spinale purulenta forse consecutive a morbillo. Questo caso interessante fu oggetto di una lezione del prof. Mya negli ultimi di aprile, ed allora già furono dimostrati i preparati e le culture ottenute.

Concordo pienamente con la descrizione che i dottori Giarrè e Picchi

hanno fatta. Insisto sul polimorfismo che presenta questo microrganismo, giacchè nel pus ha per lo più l'aspetto di un diplobacillo, mentre nelle culture può assumere una forma più allungata, talora filamentosa, o anche una forma coccacea. A me talora è riescito ottenere uno sviluppo, scarso invero, nell'agar per strisciamento. Ho avuto anche culture in brodo addizionato di liquido cefalo-rachideo. Confermo la scarsa vitalità del germe.

Ho trovato che è patogeno per il topolino bianco, che uccide in poche ore per setticemia, e per il coniglio (sia per iniezione sottocutanea, che peritoneale). Nella cavia produce solo una flogosi locale.

Riserbandomi di pubblicare per esteso i resultati a cui son giunto, vedo con piacere che le ricerche istituite dai dottori Giarrè e Picchi nei cadaveri, collimano con quanto io ho osservato anche durante la vita, cosa del resto naturale, giacchè i soggetti su cui indipendentemente si studiava erano i medesimi, essendo tutti ammalati che furono accolti nella Clinica Pediatrica.

**Giarrè.** Comincia dal constatare un fatto, che cioè il reperto così frequente di un bacillo emofilo nelle muccose dei morbillosi, reperto per la prima volta annunciato da lui e da Picchi nella seduta della Accademia del maggio 1900, è stato confermato da tutte le osservazioni successive.

Così Iehle in 23 casi di morbillo ha trovato il bacillo nei bronchi nell' 80 °/₀ e nel sangue nel 65 °/₀, Süsswein in 21 casi di morbillo ha isolato il bacillo dal mucco nasale o bronchiale nel 50 °/₀, Giarrè e Picchi nel biennio 1901-902 hanno studiato in 40 casi la secrezione congiuntivale con 32 risultati positivi; in 21 casi la secrezione nasale con 17 positivi; in 8 casi la secrezione bronchiale con 7 esiti positivi.

Ciò premesso, passa brevemente a discutere le ipotesi che si possono fare a tal riguardo:

La I^a, che sarebbe anche la più semplice, è quella accettata da Iehle e Süsswein.

Per questi autori, i quali evidentemente ammettono come dimostrata l'azione patogena specifica del bacillo di Pfeiffer, si tratta di una infezione mista di morbillo e influenza. Però a tale ipotesi si possono fare alcune obiezioni: - *a*) Il bacillo si è trovato frequentemente anche nella secrezione bronchiale di individui morti in epoche lontane da ogni epidemia di influenza (osservazioni di Elmassian, Rosenthal, Giarrè e Picchi). - *b*) Anche volendo spiegare il fatto precedente colla cosidetta *influenza sporadica*, cioè colla permanenza del bacillo di Pfeiffer in individui affetti da tubercolosi polmonare o altre malattie croniche delle vie respiratorie e susseguente trasmissione del contagio ad altri, come si può intendere che alcune infezioni, il morbillo per eccellenza, si complichino così frequentemente da influenza anche in tempi in cui l'influenza stessa non domina? Bisognerebbe quasi ammettere la costanza

dell' infezione mista, ossia che quasi tutti i malati di morbillo debbano contemporaneamente esser colpiti dall' influenza, il che appare piuttosto illogico ed improbabile. - c) Non è affatto dimostrato che alla constatazione del bacillo emofilo nelle muccose dei morbillosi corrisponda una maggior gravità nel decorso del morbillo, chè anzi dalle ricerche di Giarrè e Picchi risulta come nella grande maggioranza dei casi il morbillo segua il suo corso mite, normale.

La IIª ipotesi è che il bacillo descritto nel morbillo sia un saprofita delle vie respiratorie. Un bacillo simile è stato infatti dimostrato nei bronchi da Elmassian nella pertosse e in varie affezioni polmonari, da Giarrè e Picchi nella pertosse nella tubercolosi polmonare nella broncopolmonite difterica, da Leiner nei bronchi dei difterici, da Iehle nella scarlattina, nella pertosse e nella varicella, da Rosenthal in varie broncopolmoniti infantili, e tutti questi autori, malgrado piccole differenze morfologiche e biologiche riscontrate nei diversi campioni di bacilli da essi studiati, tendono a raggrupparli tutti sotto un tipo unico, identico a quello descritto da Pfeiffer. Non si può dunque negare che un bacillo emofilo si trovi frequentemente anche nella muccosa bronchiale di individui affetti da infezioni diverse dalla influenza e dal morbillo. Ma come deve intendersi questo saprofitismo? È il bacillo emofilo un ospite abituale e inoffensivo delle vie respiratorie? Per dir ciò bisognerebbe dimostrarne la frequenza nei bronchi di individui sani o di individui morti per cause traumatiche, avvelenamenti, ecc. ecc., il che per ora non è stato fatto. Finora il bacillo è risultato sempre dai bronchi di individui con affezioni flogistiche delle vie respiratorie, e il Rosenthal, che per primo si è fatto sostenitore del saprofitismo di tale bacillo, lo considera come un elemento importante, spesso prevalente della flora patologica del polmone, e conchiude che d' ora innanzi bisognerà classificarlo fra gli agenti pneumonitogeni accanto al diplococco lanceolato, al pneumobacillo di Friedlander, allo streptococco ecc. Le ricerche che Giarrè e Picchi hanno oggi riferito, accentuano anche maggiormente la importanza patogena del bacillo, ed è quindi permesso conchiudere che esso, anche se può vivere allo stato saprofitico nelle vie respiratorie, può divenire pericoloso, anzi essere l'agente di gravi infezioni secondarie specialmente nel morbillo. Accettando l'ipotesi suddetta, che per ora allo stato attuale delle nostre nozioni batteriologiche sul bacillo emofilo appare la più probabile, si viene anche a distruggere l'opinione del Pfeiffer, e bisogna concludere che il bacillo da lui descritto non è l'agente patogeno specifico dell' influenza, ma anche in questa malattia come nel morbillo e in altre può essere l' agente di infezioni secondarie.

IIIª L' ipotesi precedente si fonda specialmente sul concetto che il bacillo emofilo isolato dai morbillosi sia identico a quello descritto da Pfeiffer nell' influenza; ma si potrebbe domandare se a questo gruppo,

per ora poco noto. dei bacilli emofili non appartengano diverse varietà, capaci in date circostanze di provocare epidemie diverse. Così come si è ammesso sinora che il bacillo di Koch-Weeks è l'agente della *congiuntivite epidemica* e il bacillo di Pfeiffer quello dell'*influenza* vi sarebbe una 3ª varietà, cioè l'agente specifico del *morbillo*, e la grande affinità clinica ed epidemiologica che esiste fra l'influenza e il morbillo sarebbe sostenuta anche da un'affinità batteriologica. In sostegno di questa terza ipotesi potrebbero accamparsi gli stessi argomenti addotti da Pfeiffer per l'influenza, cioè il reperto tanto frequente del bacillo emofilo in quegli organi le cui manifestazioni morbose costituiscono la sintomatologia del morbillo, ossia nelle muccose oculare, nasale e bronchiale, e oltre a ciò la prevalenza in essi del microrganismo in questione su tutte le altre forme batteriche nel periodo acuto della malattia. Nè a tale ipotesi contrasterebbe il possibile saprofitismo del bacillo, essendo molti gli esempi noti di bacteri che possono vivere allo stato saprofitico sulle nostre muccose e per date circostanze climatiche, atmosferiche ecc. divenire virulenti (diplococco, bacillo difterico ecc.). Però le ricerche sinora fatte non son riuscite a trovare differenze palesi morfologiche o biologiche fra i diversi campioni di bacillo emofilo studiati, e anzi anche il bacillo di Koch-Weeks si comincia a considerare come identico a quello di Pfeiffer (Rymowitch), per cui l'A. conchiude che fra tutte la IIª ipotesi è attualmente la più accettabile.

**Mya.** Sulla comunicazione dei dottori Picchi e Giarrè, e su quella del dott. Pacchioni, desidero rilevare due punti. Il primo è d'importanza clinica e concerne la frequenza delle polisierositi fibrino-purulente, che si manifestarono quest'anno come successione o concomitanza del morbillo. Tale complicanza è menzionata dagli AA., e sopratutto da Barthez e Sannè, ma è accennata come rarità clinica. Noi abbiamo avuto quest'anno nella Clinica quattro casi di pleurite fibrino-purulenta, tre casi di pleurite associata a pericardite, nonchè due casi di meningite cerebro-spinale. Nelle numerose epidemie precedenti di morbillo, che io ho potuto seguire da che dirigo la Clinica pediatrica di Firenze, non mi era mai occorsa una simile frequenza di essi.

Debbo però subito aggiungere che l'epidemia di questa primavera è stata numericamente più grave delle precedenti, cosicchè il numero dei casi degenti nella mia Clinica ha oltrepassato la cifra di 200. Risulta ad ogni modo dimostrato che anche per le complicanze infiammatorie delle sierose legate al morbillo esiste una disposizione epidemica, le cui ragioni d'essere potranno esser chiarite da concomitanti e prevalenti associazioni microbiche.

Il secondo punto è il seguente. Il socio Giarrè ha ventilato con molta riserva e preferendo anzi un'altra interpretazione, l'ipotesi che il batterio emofilo, da lui e da Picchi ritrovato con molta frequenza sulle mucose dei morbillosi, nell'apparato respiratorio e nel sangue del

cadavere, rintracciato pure da Pacchioni nei nostri casi di polisierosite, possa rappresentare per avventura il germe patogeno del morbillo, il quale in condizioni speciali assumerebbe questa particolare attitudine patogena. A questo riguardo mi piace ricordare un caso di meningite cerebro-spinale che fu oggetto di speciali ricerche da parte nostra e da me dimostrato in lezione il giorno 16 aprile.

In questo caso, in cui del resto la precedenza morbilliforme fu fugacissima e dubbia, cosicchè io lo tolsi dal padiglione d'isolamento per ammetterlo nel turno comune, s'isolò dal liquido cefalo-rachideo estratto in vita un batterio emofilo, che risponde ai caratteri del germe isolato da Giarrè e Picchi. Se questo fosse il germe del morbillo, è probabile che si sarebbe diffuso ai bambini accolti nella stessa sala, durante la sua degenza discretamente protratta. Notisi che il germe oltrechè nelle meningi era anche localizzato nell'apparecchio respiratorio.

**Giarrè.** Risponde al dott. Pacchioni che nelle sue ricerche ha potuto constatare varie volte che i campioni di bacillo provenienti da materiale purulento, specialmente nella congiuntivite, si presentano spesso nelle culture più grossi e con lunghi filamenti, come appunto avrebbe osservato il Pacchioni nel pus della meninge estratto colla puntura lombare. Al professore Mya obietta che il caso da lui citato non potrebbe infirmare la terza ipotesi da lui accennata, essendo a tutti noti i casi in cui un morbilloso in atto è rimasto a contatto di altri bambini, che non avevano mai avuto innanzi la malattia e pure sono rimasti immuni dal contagio, e d'altra parte osserva che nel caso in questione il bacillo era rinchiuso nella cavità pleurica e nel canale cefalorachidieno, e quindi il pericolo di contagio veniva anche perciò ad esser rimosso. Del resto ripete che ha enunciato la terza ipotesi con tutte le riserve, conchiudendo che attualmente la più accettabile gli sembrava quella di un bacillo molto diffuso nella specie umana anche allo stato saprofitico, ma capace di divenire per aumentata virulenza, agente d'infezioni secondarie specialmente nell'influenza e nel morbillo.

Il prof. **G. Banti** crede pienamente giustificate le tre ipotesi enunciate dal dott. Giarrè. Se dovesse manifestare la sua predilezione per una tra esse, accetterebbe volentieri quella per cui si ammette l'identità tra il bacillo emofilo ed il bacillo del Pfeiffer e nella quale perciò si considera questo batterio come un saprofita ordinario delle vie aeree superiori, capace in circostanze determinate di divenire patogeno.

Egli ricorda che il bacillo emofilo si ritrova in condizioni patologiche diverse: nella congiuntivite acuta contagiosa, nelle bronchiti e broncopneumoniti morbillose, talora nelle tossi convulse e in molti altri stati morbosi che non hanno niente di comune con l'influenza: ricorda come sia possibile trovarlo anche sopra muccose normali. Tra il bacillo trovato in queste circostanze e quello isolato in casi tipici d'influenza non esiste alcuna differenza morfologica, vegetativa, sperimentale ecc., tantochè

manca qualunque base per considerare i due batterî come due specie o anche come due varietà diverse.

Altro argomento per l'identità l'O. lo trova nel modo identico col quale nell'uomo il batterio mostra la sua azione patogena sia nella influenza, sia nei casi illustrati dai dott. Picchi e Giarrè. In ambedue le condizioni si vede che il bacillo emofilo è capace non solo di determinare flogosi bronco-polmonari anatomicamente simili, ma ben anco di produrre analoghe localizzazioni ematogene nelle pleure, nel pericardio, nelle meningi ecc.

Accettando l'ipotesi dell'identità, si verrebbe a negare che il bacterio del Pfeiffer sia l'agente specifico dell'influenza. Questa conclusione non spaventa affatto l'O. Egli ricorda le recenti ricerche del Wassermann, il quale in molti casi anche gravissimi d'influenza, ritrovò il bacillo del Pfeiffer solo nelle prime ore della malattia: ben presto il batterio spariva, ma nondimeno il male continuava il suo decorso. Inoltre l'O. fa notare che l'epidemiologia dell'influenza non si accorda affatto con le proprietà biologiche del bacillo emofilo e che soprattutto non vi si accorda il modo rapidissimo di diffusione della malattia. Perciò non è da ora che l'O. dubita dell'importanza del bacillo descritto dal Pfeiffer nella genesi dell'influenza.

**Mya**. Ritorno ancora una volta sulla specificità del batterio emofilo isolato dai casi di morbillo. Noto che in alcuni casi di polisierosite studiati da noi furono ritrovati insieme al batterio emofilo, altri germi, come lo streptococco, ed in due casi isolatamente il pneumococco di Fränkel. È noto del resto quanta sia la frequenza con cui lo streptococco ed il pneumococco si ritrovano nei polmoni, nel sangue del cuore e nella milza dei bambini morti successivamente al morbillo.

Questi due germi meriterebbero dunque di avere di fronte alla etiologia del morbillo un'importanza uguale a quella del batterio emofilo. Io divido perfettamente l'opinione espressa dal socio Banti, che tale germe sia un ospite frequente delle vie aeree e possa assumere in condizioni speciali un'attitudine flogogena sulla muccosa respiratoria e sulle membrane sierose.

**Picchi**. Ringrazia subito il prof. Mya per il controllo confermante le ricerche da lui praticate in unione al dott. Giarrè. Concorda perfettamente col dott. Pacchioni relativamente al polimorfismo presentato da questo batterio: non avendo a sua disposizione liquido cefalo-rachideo, non ha potuto sperimentare il terreno misto di brodo e liquido rachideo che ha dato risultati favorevoli al dott. Pacchioni. Crede che i risultati positivi ottenuti da qualcuno, circa lo sviluppo di questo bacillo su terreni privi di emoglobina, dipendano molto da speciale alcalinità dei liquidi impiegati. In quanto poi all'osservazione del prof. Mya relativa alla presenza nelle sezioni delle sierose alterate, di streptococchi, risponde, che egli pure ha nelle culture osservata la presenza e lo svi-

luppo di colonie più o meno abbondanti dei piogeni, ma che almeno per i casi nei quali è stato ritrovato puro, due per la pleura, uno per la meninge, non si può ad esso togliere affatto il valore di agente per lo meno piogeno per darlo a streptococchi che in quei casi non si sono trovati presenti.

**Dottori E. Ligorio** ed **R. Giani.** — *Lo stato delle cellule nervose nell' avvelenamento da iodoformio.* (Comunicazione fatta dal **dott. Ligorio**, con presentazione di preparati microscopici).

Come è già stato fatto per moltissime altre sostanze tossiche ci siamo proposti di vedere quali fossero le modificazioni che le cellule nervose subiscono nell'avvelenamento per iodoformio.

Ci siamo a tale scopo serviti di cani cui abbiamo iniettato nel cellulare sottocutaneo della emulsione jodoformica sia in olio d'oliva che in glicerina. Scegliemmo animali vecchi, come quelli che sono più sensibili al veleno e provocammo delle intossicazioni acute, iniettando forti dosi d'iodoformio in una sola volta, e croniche ripetendo le iniezioni più leggere ogni due o tre giorni, in modo da tenere sempre l'animale sotto l'azione del veleno.

La morte nei casi acuti avvenne dopo 24-36 ore, nei cronici dopo 45-60 giorni. Il materiale fu raccolto immediatamente dopo la morte e fissato col sublimato saturo, le colorazioni si fecero col metodo Nissl alla tionina e coll'ematossilina Delafield; alcuni pezzi furono preparati nel liquido di Cox.

Tralasciamo di riportare qui le singole esperienze eseguite; noteremo solo che i fenomeni generali presentati dagli animali hanno consistito principalmente in depressione grave, incoordinazione dei movimenti, sonnolenza fino al coma, pei casi acuti, — deperimento rapido, apatia, fatti paralitici del treno posteriore pei casi cronici. Non si ebbero mai fenomeni d'eccitamento nè convulsioni.

Venendo alle alterazioni osservate ecco quanto ottenemmo:

1° *Avvelenamento acuto.* — Le cellule dei gangli spinali appaiono profondamente alterate per distruzione delle zolle cromofile, e diffusione della sostanza cromatica pel protoplasma che ha così assunta una colorazione omogenea; il nucleo si lascia tingere uniformente dalla tionina, il nucleolo è ben colorato. Alcune cellule medie e piccole presentano questa cromatolisi solo alla periferia; il nucleo è però sempre alterato. Il reticolo acromatico è pure disgregato negli elementi più colpiti.

Gli elementi del midollo spinale si presentano meno colpiti, in genere le grosse cellule radicolari anteriori hanno una disgregazione parziale che le invade a chiazze irregolari disposte alla periferia. Anche il reticolo acromatico si presenta alterato in questi tratti ove si facciano le colorazioni coll'ematossilina Delafield.

Pure la sostanza cromofila delle cellule di Purkinje è disgregata

in un detrito pulverulento, la cellula appare più colorata nel tratto perinucleare, mentre alla base rimane uno spazio semilunare chiaro.

Il nucleo è raggrinzato e colorito omogeneamente.

Nella corteccia cerebrale si trovano delle cellule piramidali giganti con cromatolisi periferica, regolare o a chiazze, è raro che essa invada tutto il corpo cellulare; il nucleo appare normale. Nelle grandi e medie piramidali invece i fatti degenerativi sono più gravi, il protoplasma appare tutto di un aspetto pulverulento nelle colorazioni colla tionina e rimane chiaro colla ematossilina, il che prova che un uguale grado di dissociamento ha colpito le due parti costituenti, il nucleo è colorato intensamente, non ha il reticolato normale ed è un po' spostato verso la periferia della cellula.

Riassumendo dunque possiamo dire di riscontrare in tutte le varie regioni del sistema nervoso diversi gradi di un solo processo: ossia lo spezzettamento delle zolle cromatiche, la loro trasformazione in un pulviscolo che si diffonde per tutto il corpo cellulare e la distruzione del reticolo acromatico. Il nucleo in genere risente meno l'azione del veleno e così pure il nucleolo.

2° Per l'*avvelenamento cronico* le cose passano non molto diversamente, pur mostrandosi tutte le alterazioni in un grado molto più avanzato.

L'aspetto generale delle sezioni condotte pei gangli spinali farebbe credere di trovarsi in presenza ad elementi normali, e questo è un fatto in apparente contradizione con quanto ora abbiamo annunciato, però un più attento esame ci mostra come queste cellule dei gangli abbiano zolle cromatiche più piccole, irregolari ed a contorni più sfumati che non nel normale, esse inoltre si fanno più rade e più piccole alla periferia della cellula che è assai impiccolita e con grande spazio pericellulare.

Il nucleo è chiaro, centrale e di aspetto sano.

Nel midollo spinale vi sono cellule quasi normali accanto ad altre in cui il protoplasma è uniformemente colorato dalla tionina attorno al nucleo mentre rimane scolorato alla periferia. L'ematossilina mette però tuttora in evidenza il reticolo; il nucleo ed il nucleolo sembrano normali.

Le cellule del Purkinje si presentano la maggior parte ridotte ad una cavità chiara, limitata da poco netti contorni e contenente il nucleo, cui stanno uniti pochi cumuli di sostanza cromatica frammentata: talvolta pure il nucleo si distingue a fatica. Vi sono altre cellule quasi normali e molti stadi di più leggera degenerazione che, se parziale, ha sempre sede nella parte basale del corpo della cellula.

In due degli animali sperimentati è più evidente che in altri questo contrasto fra elementi in totale sfacelo ed elementi ben costituiti.

Questo dualismo è poco evidente nella corteccia cerebrale, ove le

cellule in buone condizioni sono rarissime. In quasi tutte le piramidali il protoplasma rimane incoloro assolutamente ad ogni metodo, si può dire che la cellula è ridotta ad un sacco contenente pochi detriti cromatici; il nucleo è retratto, anfrattuoso, colorito uniformemente ed il nucleolo si distingue male. Le piccole e medie piramidali hanno il nucleo normale, ma il protoplasma rigonfio e scolorato. Quelle cellule della corteccia il cui aspetto si avvicina più alla norma hanno zolle cromatiche più piccole e meno distinte del solito.

In tutti i casi i preparati allestiti col liquido del Cox non hanno dato immagini tali cui si possa attribuire un valore speciale.

Come vediamo dunque si hanno nell'avvelenamento cronico due serie di fatti: la degenerazione di gran parte degli elementi e le relativamente buone condizioni di un'altra parte. Dobbiamo noi ritenere questi aspetti quasi normali come di cellule che non hanno risentito gran danno dal veleno o come di elementi in via di *restitutio ad integrum?* La quistione del rigenerarsi degli elementi nervosi è tuttora molto scura, ma nel caso speciale ci sentiremmo propensi ad ammetterla come la più probabile.

Concludendo, rimane accertata la perniciosa azione dell'iodoformio sull'elemento nervoso; e le alterazioni valgono pure a spiegare come la sintomatologia riscontrata nei casi di avvelenamento sia stata prevalentemente a carico del sistema nervoso.

Le alterazioni inoltre non hanno nè caratteri nè localizzazioni speciali all'iodoformio, ma si presentano simili per modalità e sede a quanto da altri osservatori (Lugaro, Camia ecc.) fu riscontrato per altri veleni.

**Levi.** Domanda al dott. Ligorio se egli trovò alterazioni nelle cellule piccole scure dei gangli spinali.

**Ligorio.** Trovò le maggiori alterazioni nelle cellule grandi e medie.

**Pestalozza.** Domanda al dott. Ligorio quale sintomatologia presentavano gli animali intossicati.

**Ligorio.** Questi animali erano depressi, apatici, avevano sete ardente e presentavano paralisi degli arti posteriori.

**Dott. Gilberto Rossi.** — *Di alcune proprietà microchimiche delle isole del Langherhans* (con presentazione di preparati microscopici).

Il dott. A. Mankowski pubblicò nel fascicolo dell'8 novembre dell'*Archiv für Mikroskopische Anatomie und Entwicklungsgeschichte* un lavoro sui cambiamenti microscopici del pancreas in seguito alla legatura di singole parti e su qualche proprietà microchimica delle isole del Langerhans; in questo lavoro il Mankowski giunge sulla natura delle isole a conclusioni del tutto differenti da quelle alle quali sono giunti con i loro lavori il Diamar, lo Schultz e il Ssobolew.

Il Mankowski afferma che senza dubbio le isole rappresentano uno

degli stadî morfologici dell'attività della ghiandola pancreatica. Ciascuna porzione di ghiandola deve alla fine della sua attività secretoria arrivare a questo stadio, conclusioni del tutto contrarie a quelle del Diamar, secondo il quale le isole rappresentano delle vere e proprie ghiandole a secrezione interna.

Il tessuto a secrezione interna del pancreas non è prodotto di alternata metamorfosi del tessuto a secrezione esterna nel corso della vita, ma è costante e invariabile.

Io non intesi affatto con queste mie ricerche di assai modesta importanza di addentrarmi nella questione complessa della natura delle isole; volli solo ripetere alcune esperienze del Mankowski.

Il Mankowski dice: Se si inietta nel dotto pancreatico di un coniglio appena morto una soluzione di nitrato d'argento all'1 %, già al momento dell'iniezione appaiono numerosi punti bianchi nel pancreas; in preparati non coloriti fatti con pezzi di ghiandola induriti in alcool e inclusi in paraffina si osserva all'esame microscopico un fatto molto interessante.

Nelle fette non colorite, di un color grigio chiaro si vedono macchie nere o grigie scure che corrispondono alle isole del Langherhans; se si osserva una di queste macchie a forte ingrandimento ci si può persuadere che la colorazione scura è dovuta a una grande quantità di finissime particelle di argento metallico o di ossido, particelle che si trovano esclusivamente nel protoplasma delle cellule delle isole. Le restanti parti della ghiandola non contengono questo precipitato di argento.

Questo fatto dimostra secondo il Mankowski che le cellule del pancreas quando sono nello stadio di isole del Langherhans presentano non solo cambiamenti morfologici ma acquistano anche delle speciali proprietà chimiche che trovano la loro espressione nella riduzione del nitrato d'argento.

Questo fatto se confermato sarebbe assai interessante.

Io feci le mie esperienze nel coniglio e nel cane, nel primo perchè era l'animale adoperato da Mankowski, nel secondo per mettermi in più larghe condizioni di osservazione sperimentando in due animali. Contemporaneamente al pancreas feci iniezioni di nitrato d'argento anche nella parotide sperando di poter trarre qualche vantaggio dalla comparazione dei risultati ottenuti nei due organi come di fatti riuscii ad ottenere.

Feci iniezioni in 4 pancreas di cane e in 4 di coniglio ed iniettai le parotidi in 4 cani. Gli animali erano adoperati subito appena morti. Per la iniezione mi servivo di una cannula di vetro che introducevo nel dotto di Wirsung o nel dotto di Stenone: la cannula comunicava con un recipiente contenente la soluzione di nitrato d'argento, recipiente che io sollevavo più o meno secondo la pressione che volevo ottenere. La

soluzione di nitrato d'argento che io adoperai era all' 1 % preparata subito prima dell'iniezione, tenuta fuori della luce, e i recipienti e le cannule con i quali facevo l'iniezione, erano neri in modo da evitare la formazione di precipitati. In alcune esperienze tenni appositamente per lungo tempo la soluzione alla luce del sole per provocare un finissimo precipitato. Gli organi iniettati erano fissati dopo più o meno tempo in alcool, inclusi in paraffina e le sezioni, osservate in gran numero, alcune venivano colorite ed altre no.

*Esperienza I.* — Iniettai la soluzione di nitrato d' argento nel pancreas di un cane ad una altezza di 25 cm., lasciando agire l'apparecchio per un minuto. Appaiono subito nel pancreas delle piccole macchie biancastre. Fissati i pezzi ed osservate le sezioni incolore si vedono su un fondo grigio chiaro delle macchie un po' scure della grandezza variabile da $^1/_5 - ^1/_2$ mm. nelle quali a forte ingrandimento si vedono gli elementi cellulari colorati uniformemente, non si vedono granuli. Nelle sezioni colorate si vedono le isole del Langherhans meno colorite dal nitrato d'argento.

*Esperienza II.* — Iniettai nel pancreas di un cane la stessa soluzione ad una altezza di 50 cm. Appaiono subito le solite macchie biancastre le quali si vanno a poco a poco ingrandendo durante l'iniezione e qua e là finiscono col confluire. All'osservazione microscopica si vede presso a poco quanto si vide nell' osservazione precedente, solo le macchie sono più grandi, e le piccole macchie bianche che compaiono nel pancreas durante l' iniezione non sono isole del Langherhans come crede il Mankowski, ma corrispondono a quei punti della superficie dell' organo nei quali prima giunge l'iniezione, tanto è vero che queste macchie, seguitando a far agire l'iniezione, a poco a poco invadono tutto il pancreas.

*Esperienza III.* — Tenendo il recipiente all' altezza di 1 m. $^1/_2$ e facendo agire l'iniezione per $^1/_4$ d'ora si vede che tutto il pancreas assume quel colore biancastro del quale abbiamo parlato, nelle sezioni non colorite si vede tutto il tessuto di un colore grigio e qua e là dei punti un po' più scuri: con la colorazione ci si può però persuadere che questi punti non hanno che fare con le isole. Osservando questi punti più scuri a forte ingrandimento si vede che questo color bruno è dato da accumuli di finissimi granuli nei canalicoli e tra cellula e cellula.

*Esperienza IV.* — Feci una soluzione di nitrato d' argento non molto puro, la tenni lungo tempo esposta alla luce solare finchè assunse un leggerissimo color bruno e la iniettai nel pancreas a una altezza di 1 m. $^1/_2$, facendo agire l'apparecchio per 15 minuti. Nelle sezioni si vede che le zone simili a quelle descritte e raffigurate dal Mankowski sono assai numerose, si vedono cioè in un fondo grigio delle zone di un color grigio bluastro, che osservate a forte ingrandimento si vedono esser date da un grandissimo numero di granulazioni finissime raccolte nei canalicoli e tra cellula e cellula; identicamente a quanto raffigura il Man-

kowski, per quanto nella descrizione dica che queste granulazioni invadono esclusivamente il protoplasma. In sezioni colorite si vede che queste zone non hanno che fare con le isole, nelle quali non si riscontrano mai granulazioni.

Nel pancreas di coniglio ottenni gli identici risultati.

Nella parotide ancora ottenni i medesimi risultati.

Da queste brevi esperienze mi par dunque di poter conchiudere che le zone scure considerate dal Mankowski come isole del Langherhans, non sono realmente tali.

Che i granuli che il Mankowski dice essere di argento ridotto dal protoplasma delle cellule delle isole sono invece granuli di precipitato: prendendo infatti tutte le precauzioni per evitare la riduzione del nitrato d'argento nella soluzione, le zone sopraddette mancano quasi del tutto, mettendosi invece in condizioni favorevoli per avere dei precipitati queste zone sono numerose ed estese. I preparati fatti con parotidi trattate nella stessa maniera mostrano zone identiche a quelle del pancreas.

Infine i numerosi punti bianchi che si vedono nel pancreas durante l'iniezione non hanno neppur essi a che fare con le isole.

**Dott. N. Tiberti.** — *Intorno all'azione di un microrganismo patogeno, isolato dal « Murex brandaris », sui tessuti animali* (con presentazione di preparati microscopici).

Lo scorso febbraio il prof. Galeotti, in seno a questa Accademia, mostrò alcune culture di un microrganismo da lui isolato insieme al dottore Zardo, da alcuni esemplari di *Murex br.* pescati ad Isola nel distretto di Capo d'Istria, ove nel novembre del 1900 si erano verificati parecchi casi di una grave intossicazione, dovuti indubbiamente ad ingestione di murici, designati colà col nome di *Garruse.*

43 furono i casi di avvelenamento.

5 terminarono colla morte.

I fenomeni morbosi presentati dai malati si possono riassumere così: vomito, dolori all'epigastrio, cefalea, sete intensa, ematuria, epistassi, itterizia, fenomeni paralitici, coma.

All'autopsia il fatto maggiormente degno di nota era una quantità enorme di ecchimosi e suffusioni sanguigne nel cellulare sottocutaneo, nel tessuto muscolare e nelle sierose, degenerazione grassa del fegato e del miocardio, mucosa intestinale iperemica.

Il microrganismo isolato da Galeotti e Zardo dai Murici in parola si mostrò altamente patogeno per i conigli e le cavie. Di questo microrganismo essi determinarono le proprietà morfologiche e biologiche.

Il prof. Lustig affidò a me il compito di studiare minutamente le alterazioni provocate da questo microbio sugli animali da esperimento e per far ciò io infettai conigli e cavie per via ipodermica, peritoneale, endovenosa e gastrica.

Come la maggior parte degli animali presentarono fenomeni nervosi, consistenti in convulsioni, accompagnate da profondi gemiti, esagerazione dei riflessi e opistotono, io praticai costantemente l'esame del sistema nervoso centrale, prendendo sopratutto in considerazione la corteccia cerebrale, il midollo spinale e i gangli intervertebrali.

Mi servii per queste mie ricerche del metodo di Nissl e riscontrai nella zona cortico-motrice rigonfiamento delle cellule piramidali medie e piccole.

Rigonfiate parimente mi apparvero molte cellule delle corna anteriori e posteriori del midollo spinale. In altre cellule notai spezzettamento delle zolle cromatiche e diffusione di esse nel protoplasma. In altre il nucleo era come raggrinzato e colorato più intensamente, in guisa che il nucleolo si distingueva poco bene.

Non trovai alterazioni di sorta nelle cellule dei gangli spinali.

In complesso, le alterazioni da me riscontrate nelle cellule nervose non sono delle più gravi, ma sono tutte suscettibili di guarigione.

Esse non sono certamente proporzionali ai fenomeni morbosi presentati dagli animali, nè si riscontrano in un numero così grande di elementi cellulari, da far ritenere che esse siano state la causa precipua della morte degli animali stessi, che fu invece determinata dalle lesioni degli altri organi.

Nel *miocardio* non si ritrovano gravi alterazioni: in qualche caso si ha un lieve grado di degenerazione grassa.

Nei *polmoni* macroscopicamente si trovano in tutti i casi focolai di colorito bruno, di forma conica, alquanto duri, non aereati (infarti). Microscopicamente, in corrispondenza di questi focolai si notano numerosi globuli rossi, scarsi globuli bianchi e filamenti di fibrina. Sangue si nota pure negli spazi interalveolari.

Nel *fegato* si notano le maggiori alterazioni. Numerosi focolai emorragici più o meno voluminosi si presentano sparsi qua e là nel parenchima epatico. In tutti i casi si ha rigonfiamento delle cellule epatiche; negli animali nei quali l'infezione fu provocata per via digerente si ha degenerazione grassa del fegato, per quanto lieve. In altri casi più gravi il connettivo inter- ed intralobulare è fortemente aumentato e in mezzo ad esso notasi un gran numero di canalicoli biliari neoformati.

Anche nella *milza* si osservano numerosi focolai emorragici: si nota inoltre infiltramento dei follicoli malpighiani.

Nei *reni* si ha rigonfiamento torbido degli epiteli renali, di guisa che in alcuni canalicoli il lume è completamente scomparso. Si riscontrano i soliti focolai emorragici tanto nella sostanza midollare, quanto nella corticale. Si hanno inoltre qua e là emorragie glomerulari.

Nello *stomaco*, in quegli animali in cui l'infezione fu determinata per via gastrica, la mucosa apparisce iperemica: qua e là si riscontrano focolai emorragici sottomucosi; in alcuni punti abrasioni epiteliali. Nelle

cellule epiteliali si ha un lieve grado di rigonfiamento. L'epitelio ghiandolare non mostra particolari alterazioni. Nella sottomucosa si ha un modico infiltramento parvicellulare.

Nell'intestino, oltre le solite emorragie sottomucose si nota infiltramento dei villi e dei follicoli linfatici.

Come si vede da questa breve esposizione di fatti, le lesioni da me riscontrate negli organi degli animali inoculati col B. isolato da Galeotti e Zardo dal *Murex br.*, trovano perfetta analogia con quelle descritte da altri in casi di gravi intossicazioni per sostanze alimentari o per infezioni di microrganismi ricavati da queste sostanze.

Di speciale interesse credo sieno i fatti emorragici da me riscontrati nei vari visceri, poichè in base ad essi forse si potrebbe ascrivere il Bacillo che è servito per le mie esperienze al gruppo dei microrganismi della setticemia emorragica.

**Banti.** Domanda quale fu la durata dell'avvelenamento e quanto tempo decorse fra il principio della infezione e la costatazione delle alterazioni cirrotiche nel fegato.

**Tiberti.** La durata della tossi-infezione fu varia a seconda della via di inoculazione. Gli animali infettati direttamente per la via circolatoria rimasero in vita in media 8-17 giorni. Gli altri 15 giorni 1 $^1/_2$ mese. Le alterazioni cirrotiche nel fegato furono ritrovate in generale negli animali morti tardivamente. Solo in un coniglio inoculato per la via venosa si riscontrarono 17 giorni dopo la infezione.

*Il Segretario degli Atti*
C. Comba.

---

## Adunanza pubblica del dì 10 Giugno 1902.

Presiede il Prof. G. FANO, *Presidente.*

Sono presenti i Soci: Baduel, Bottazzi, Bufalini, Caccia, Capei M., Chiarugi, Comba, Corsini, Filippi, Flora, Giarrè, Giuntoli, Levi, Livini, Luisada, Lustig, Mya, Orefici, Orlandini, Pacchioni, Picchi, Radaeli, Stori.

Il socio aggregato **dott. Filippi** legge le conclusioni della seguente comunicazione del socio corrispondente prof. Giusto Coronedi, della Università di Sassari.

**Prof. G. Coronedi.** (Dall'Istituto farmacologico della R. Università di

Sassari). — *L'ablazione completa dell' apparecchio tiro-paratiroideo nei cani nutriti con grassi alogenati.* — Ulteriori osservazioni.

Anche a nome del dott. **G. Marchetti** (Istituto chimico-farmaceutico di Firenze) presenta il risultato delle sue ulteriori osservazioni intorno agli effetti dei grassi alogenati sugli animali operati di tiro-paratiroidectomia completa; avverte che la memoria originale relativa con tutti i particolari di 12 esperienze è di imminente pubblicazione.

Dopo aver ricordato la sua precedente nota di carattere preliminare uscita l'anno scorso, accenna in breve alla importanza singolare degli acidi grassi non saturi che hanno assorbito *cloro*, *jodio* e *bromo*, riguardo al loro contegno fisiologico, in quanto che rappresentano delle *forme veramente alimentari alogeniche.* Rileva la resistenza di questi acidi alogeno-sostituiti di fronte ai processi biochimici, in virtù di cui cloro, jodio e bromo possono rendersi liberi nell'organismo: tale resistenza benchè sempre *notevole*, va decrescendo rispettivamente dall'*acido dibromostearico*, *al dijodostearico*, *al cloro-jodostearico* nella somministrazione per via ipodermica, mentre nella somministrazione per bocca i due ultimi si ravvicinano, mettendosi da essi facilmente in libertà jodio sotto la influenza del mezzo intestinale. Questi singolari composti jodici e bromici si discostano da tutti gli altri fin qui noti, e formano un capitolo di farmacologia a sè: si eliminano con straordinaria lentezza e rimangono a lungo depositati in un tessuto di riserva fisiologica come il grasso. Per notizie più precise rimanda alle sue già numerose e speciali pubblicazioni in proposito.

Le esperienze intorno all'azione dei tre acidi dibromostearico, dijodostearico e cloro-jodostearico negli animali stiroidati e di cui l'A. intende parlare ora, sono state eseguite sul cane.

I prodotti vennero somministrati per bocca (colla ordinaria razione alimentare) e per via sottocutanea, prima dell'atto operativo solamente, ovvero solamente dopo quando infierivano più minacciosi i sintomi della mancata funzione tiro-paratiroidea, ovvero nell'un modo e nell'altro.

Bromizzazione e jodizzazione si sono praticate in diversa misura e per un periodo di tempo più o meno lungo.

Salvo in una esperienza, mai si è tralasciato l'esame anatomico dell'apparecchio tiro-paratiroideo, onde assicurarsi della completa estirpazione del medesimo.

Su questo materiale R. Luzzatto, sotto la direzione dell'A., ha eseguito numerose ricerche istologiche, in parte già pubblicate in questi giorni: risulta in breve dalle medesime che per l'influenza di piccole e sopratutto medie dosi di grassi jodati e bromati si osserva aumento della sostanza colloide e comparsa nel tessuto tiroideo di masse cellulari compatte le quali lontanamente ricordano il tessuto paratiroideo: al contrario per dosi alte, specialmente dei primi, si nota diminuzione della col-

loide e discreto aumento del connettivo intorno ai vasi di più grosso calibro. Si continuano indagini di tal genere, estendendole ad altri organi ancora, specie alla ipofisi del cervello.

Negli animali sottoposti all'azione dell'acido dibromostearico si verifica *in modo costante* l'attenuazione fino alla scomparsa, ovvero l'assenza assoluta di tutti i fenomeni caratteristici della tiro-paratiroidectomia totale.

Questo risultato può durare un tempo più o meno lungo dopo l'atto operativo. La durata media della vita è però sempre in ogni caso molto superiore a quella ordinaria degli animali sottoposti alla medesima operazione, ma non al medesimo trattamento. Abbiamo veduto nei casi più disgraziati l'animale vivere p. e. 65 giorni: la morte avviene in mezzo ai sintomi caratteristici della tiro-paratiroidectomia, i quali insorgono d'improvviso dopo un lungo periodo di completo benessere. In altra esperienza, ad. es. un cane operato il 23 aprile dell'anno scorso è tuttora vivo ed in ottime condizioni di salute.

Se invece dell'acido dibromostearico, rimanendo pari tutte le altre condizioni sperimentali, si somministra bromo sotto altra forma di combinazione, p. e. di bromuro sodico, non si osserva l'attenuazione neppure di tutti i sintomi, ma soltanto la soppressione dei sintomi di eccitazione nerveo-muscolari: la durata della vita è poco o punto prolungata, ed il corso del quadro fenomenologico è identico a quello che si osserva nel cane stiroidato senza alcuna cura.

In quest'ultimo punto le esperienze dell'A. si accordano in modo perfetto con quelle di Gley, mentre si scostano da quelle eseguite da R. Cannizzaro col bromuro potassico. Al contrario i risultati di Cannizzaro con questo preparato bromico, somigliano, nelle linee generali, a quelli ottenuti dall'A. sperimentando coll'acido dibromostearico.

Con l'acido dijodostearico, somministrato in dosi convenienti, l'A. ottenne risultati identici, nell'insieme, a quelli già descritti per l'acido bromo-sostituito.

Con l'acido cloro-jodostearico, per le ragioni sopra accennate, non riuscì all'A. di ottenere risultati altrettanto chiari e dimostrativi: in causa della relativa scarsa stabilità del composto, insorgono con facilità fenomeni più o meno gravi di jodismo che, o impediscono del tutto, o almeno complicano l'osservazione. Nel caso più fortunato, cioè quando si è proceduto con straordinaria prudenza nella jodizzazione con questo acido alogeno-sostituito, si osserva bene solo la mancanza o l'attenuazione dei fenomeni di eccitazione nerveo-muscolare: risultato analogo ebbe di recente Lusena, sperimentando collo jodio ed il joduro potassico.

Circa alle considerazioni che si possono fare intorno alle esperienze, già abbastanza numerose eseguite, l'A. intanto reputa impossibile attribuire i fatti osservati semplicemente al caso. Contro ciò parlerebbero:

1° la costanza manifesta con cui si verifica il fenomeno.

2° la circostanza che l'alimentazione col grasso alogenato non dimostra soltanto effetti benefici preventivi, ma ancora curativi.

3° l'esistenza di un rapporto, per quanto ancora non bene determinato, fra la presenza dell'alogeno nell'organismo e il benessere di questo.

4° la prova incontestabile che l'ablazione dell'apparecchio tiro-paratiroideo è stata sempre completa.

Ma come spiegare ed interpretare il significato dei fatti sicuri nella loro constatazione?

L'A. dichiarandosi avverso al teorizzare sopra fatti ancora troppo insufficienti allo scopo, prima di tutto si propone di continuare ed estendere sempre più le sue ricerche, per risalire, se e quando sarà possibile, ad un concetto scientifico dottrinale. Frattanto però egli credè di potersi permettere alcune considerazioni in proposito.

Fa osservare che mentre, secondo Gley, gli effetti benefici ottenuti nei cani stiroidati in seguito alla somministrazione del bromuro potassico, sarebbero di natura puramente sintomatica, nel senso cioè che il farmaco varrebbe a sopprimere i fenomeni convulsivi, che rappresentano il sintoma più grave e minaccioso dell'operazione, secondo Cannizzaro dovrebbero ascriversi ad una azione specifica del bromuro medesimo, simile quasi a quella dell'estratto tiroideo.

Rispetto ai bromuri, l'A., almeno in base a quello che ha osservato fin qui, si sente autorizzato ad accettare piuttosto l'opinione di Gley.

Riguardo però all'acido dibromostearico ed al dijodostearico non gli sembra, almeno per ora, di poterne identificare in tutto l'azione e quella dei bromuri e dei joduri anche negli animali stiroidati. L'A. qui si domanda se per avventura Br e I esercitino oltre la loro nota azione farmacologica caratteristica, anche un'altra azione, d'ordine biologico più generale, che si potrebbe quasi più propriamente dire fisiologica: nel senso cioè di rappresentare entro certi limiti, dal punto di vista funzionale, il tessuto tiro-paratiroideo.

Questa domanda sarebbe giustificata dai fatti fin qui raccolti, i quali nel modo più chiaro e concorde dimostrano che, sotto l'influenza dei citati elementi, somministrati in forma di acidi grassi alogeno-sostituiti, vale a dire in forma alimentare, non solo si attenuano o anche spariscono del tutto i fenomeni di eccitazione nervoso-muscolari consecutivi alla tiroparatiroidectomia completa, ma altresì i fenomeni non meno gravi ed imponenti distrofici della cachessia strumipriva, e i sintomi depressivi a carico del sistema nervoso e muscolare. In proposito ricorda un'esperienza relativa ad una cagnolina di 2 mesi, che, guarita rapidamente dell'atto operatorio, non solo non ha presentato mai fin qui alcuno dei sintomi proprî consecutivi a quest'ultimo, ma ha continuato a svilupparsi ed a crescere come un animale in condizioni fisiologiche.

È un fatto incontrastabile che gli animali stiroidati trattengono con una tenacia sorprendente p. e. il bromo nel loro organismo: l'elimina-

zione sembra essere alquanto più lenta di quello che è normalmente per l'acido dibromostearico. Gli alogeni, come abbiamo veduto, così somministrati rimangono in deposito in un tessuto di riserva come è il grasso, e da uno stato di energia latente si direbbe quasi che divengano fisiologicamente attivi chiamati dal bisogno.

Se le esperienze che l'A. continua, valessero a dar conferma a simile modo di vedere, potrebbero forse portare un contributo alla conoscenza, ancora assai imperfetta, della funzione biologica degli alogeni nella fisiologia dell'apparecchio tiro-paratiroideo.

Termina dichiarando di mettere a disposizione di chi voglia averne notizia il suo materiale sperimentale, e di essere sempre pronto a ripetere le sue esperienze in qualunque condizione a richiesta di chi si interessi del soggetto.

Il prof. **Fano** a proposito di questa comunicazione ricorda alcune ricerche del Sion e del Barbera.

**Dott. Dante Pacchioni.** — *Artrite e meningite cerebro-spinale purulente determinate da un bacterio emofilo.* (Con presentazione di culture, e di preparati microscopici).

Riassumo per primo brevemente la storia clinica.

Sper. Lor., di ignoto, di mesi 12. Nato a termine per parto naturale. A 7 mesi ebbe la varicella, che guarì in 2 o 3 giorni senza lasciare nessuna conseguenza. A 9 mesi, ossia 3 mesi fa, ammalò di una malattia febbrile accompagnata da una eruzione generalizzata, che fu diagnosticata per morbillo. La febbre durò circa 20 giorni. Sembra che non vi siano state complicanze gravi da parte dell'apparato respiratorio. Cessata la febbre il bimbo rimase sempre malaticcio, inquieto, con poco appetito e dimagrava progressivamente e lentamente. Circa il 15 maggio, ossia a distanza di circa 2 mesi dalla malattia esantematica, la madre si accorse che il bambino aveva dolore alla spalla destra; intanto ricomparve la febbre. Pochi giorni dopo la regione della spalla destra divenne tumefatta. Il 30 maggio fu condotto all'ambulatorio della Clinica Pediatrica Medica; si riscontrò febbre, tumefazione della regione scapolo-omerale destra, la quale era ricoperta da pelle arrossata, lievemente lucente; vi era fluttuazione; il braccio era tenuto fisso contro il tronco; i movimenti provocavano dolore. Si reputò conveniente tanto dal lato terapeutico che diagnostico di praticare una puntura. Si estrassero circa 8 cc.$^3$ di pus denso, giallo-verdastro, filante.

Il bambino venne allora accolto definitivamente in Clinica Pediatrica.

Era pallido, con muscoli flosci, con discrete note di rachitismo, con febbre elevata. L'artrite andò migliorando, cosicchè dopo 4 o 5 giorni la regione della spalla destra era poco tumefatta, e molto meno dolente; i movimenti erano liberi. Nei primi di giugno comparve diarrea; le scariche erano abbastanza frequenti; non contenevano nè muco, nè sangue e

nei preparati fatti con il metodo di *Escherich* si trovò la solita flora batterica intestinale. Persisteva però la febbre con oscillazioni giornaliere da 38°,5 a 40° e fino a 41°; era agitato, inquieto. Il giorno 4 improvvisamente fu colto da accesso convulsivo clonico-tonico, che durò varî minuti e che sembra fosse localizzato nella metà destra del corpo. Contemporaneamente si notò lieve contrattura della nuca, lieve ipertonia agli arti superiori ed inferiori specialmente a destra, dove in grado minimo esisteva il fenomeno di *Körnig*. Riflessi patellari esagerati a destra. Nulla a carico dei muscoli oculari e del facciale. Dermografia evidentissima. Polmone, cuore e milza integri; fegato debordante di circa 1 cm. Orine con lievi tracce di albumina, molto acetone, scarsissima urobilina. In seguito si notò per un po' di tempo deviazione coniugata della testa e degli occhi verso destra. La contrattura della nuca e l'ipertonia dei muscoli degli arti andarono aumentando. Midriasi a destra con opacamento corneale. Il giorno 7 ebbe due accessi convulsivi, una volta prevalente a destra e una volta a sinistra. Il polso divenne frequentissimo, aritmico; il respiro irregolare, tendente al Cheyne Stokes. La temperatura si mantenne sempre elevata. Non ebbe mai vomito. Divenne estremamente assopito, poi soporoso e morì in coma il giorno 9 giugno.

La necroscopia eseguita la mattina dopo dal dott. Picchi dimostrò la presenza di meningite cerebro spinale purulenta, e di artrite purulenta della spalla destra. Presento il sistema nervoso estratto dal cadavere, perchè credo non privo di interesse il far vedere la forma anatomica di questa rara meningite. Vi è abbondante stratificazione di pus sulla corteccia cerebrale e specialmente sul midollo spinale, con discreta iperemia, con edema della sostanza nervosa, con focolai multipli ed evidenti di trombosi vasale. Nel resto del cadavere non vi era altro di importante.

Furono eseguite ricerche batteriologiche tanto dal pus ricavato con la puntura dell'articolazione della spalla destra, quanto con il liquido cefalo-rachideo estratto il giorno 5 con la rachidocentesi.

Il pus articolare esaminato al microscopio si dimostrò molto corpuscolato; gli elementi che lo costituivano erano per lo più leucociti polimorfonucleati. Spiccava subito il grande numero di batteri che esso conteneva. Le forme batteriche erano varie e si potevano riunire in 3 tipi: forme di cocchi isolati o riuniti a due, rotondeggianti o lievemente schiacciati nel lato di riunione; forme di bacilli piccoli, moderatamente tozzi, a estremi arrotondati, isolati o riuniti a due; e forme di bacilli assai più lunghi, filamentosi, diritti o curvi, scarsi. Numerose erano le forme inglobate nei leucociti; per lo più con aspetto di cocchi. Tutte queste forme batteriche si decoloravano con il Gram. Si poteva dubitare di trovarsi in presenza di una artrite dovuta a più microrganismi.

Le culture furono eseguite nel brodo, nell'agar glicerinato, nell'agar semplice, nell'agar con sangue e nel siero di maiale solidificato.

In tutti questi terreni si sviluppò un'unica forma batterica; però, ad eccezione dell'agar con sangue e del brodo, in tutti lo sviluppo fu scarso. Nei trapianti successivi il microrganismo crebbe sempre soltanto nei terreni contenenti sangue.

Scarso sviluppo ottenni anche nel liquido cefalo-rachideo estratto da un bambino idrocefalico e nel brodo addizionato del liquido cefalo-rachideo stesso. Nell'agar con sangue di piccione si formarono delle colonie minutissime, trasparenti, rugiadose, poco rilevate, le quali confluivano in una delicata patina lievemente iridescente. Da principio il bacterio campava nelle culture solo 24-36 ore; attualmente vive anche per 3 giorni. Nelle culture ha la forma di un bastoncino molto piccolo, tozzo, isolato o appaiato, che talora si presenta a filamenti più o meno lunghi.

Analoghi risultati ottenni dal liquido cefalo-rachideo. Era un liquido torbido, molto corpuscolato (in prevalenza leucociti polimorfonucleati), e assai ricco del solito microrganismo con le stesse apparenze polimorfiche. Le culture diedero gli stessi resultati; cosicchè tanto per i caratteri morfologici che culturali, posso concludere che il microrganismo trovato nel liquido cefalo-rachideo era lo stesso identico di quello del pus articolare.

Riguardo all'azione patogena di questo microrganismo ecco quanto per ora ho ottenuto.

I topolini bianchi (4) sono tutti campati fino ad oggi, ma certamente sono ammalati. In essi le iniezioni furono praticate sottocute e nel peritoneo.

Anche le cavie che ho iniettate sono tutte vive per ora. L'iniezione sottocutanea determina una flogosi purulenta e nel pus si ritrova il bacterio. In 3 conigli iniettati con brodocultura di 24 ore non ottenni la morte, ma interessanti fatti locali; giacchè per iniezione sottocutanea si formò un ascesso, per iniezione endoperitoneale dopo 36 ore trovai i segni di flogosi peritoneale con versamento siero-fibrinoso ricco di bacilli, e per iniezione entro la articolazione di un ginocchio rinvenni la formazione di essudato corpuscolato, discretamente ricco di bacilli. Un centimetro cubico di brodo-cultura di 30 ore iniettato nello speco vertebrale di un coniglio, produsse la morte in circa 20 ore con fenomeni imponenti di paralisi, seguiti da accessi convulsivi.

Alla necroscopia del coniglio trovai iperemia del midollo spinale e di tutto il cervello; nelle culture praticate dal midollo spinale e dal liquido dei ventricoli laterali, e dal sangue del cuore ottenni sviluppo del bacillo emofilo.

La brodo-cultura di 24 ore ottenuta dal midollo spinale di questo coniglio uccise in 18 ore due conigli alla dose di $^1/_2$ cm$^3$ per iniezione entro le vene auricolari; mentre altri due conigli avevano resistito ad iniezioni di 1 e di 2 cm$^3$ di brodo-culture fatte direttamente dal pus del

bambino. Sembra quindi che la virulenza si esalti per questi passaggi attraverso il sistema nervoso degli animali. Una piccola cagna, iniettata con 1 $cm^3$ di brodo-cultura nel rachide, è sopravissuta senza mostrare segni di sofferenza alcuna.

Mi riserbo di eseguire ulteriori ricerche sulle proprietà patogene di questo microrganismo. Come conclusione posso dire di aver trovato nel pus di una artrite e di una meningite purulenta un bacterio emofilo. Esso è lo stesso che ho ritrovato nel pus di alcune pleuriti consecutive al morbillo e nel sangue di individui morbillosi, e nel pus di una meningite cerebro-spinale purulenta forse consecutiva a morbillo. Esso è lo stesso che in condizioni quasi identiche alle mie, indipendentemente da me, Giarrè e Picchi hanno riscontrato. Corrisponde infine a quello descritto da Pfeiffer nell'influenza, e dopo di lui da Bruschettini, Cantani, Pfuhl, Rosenthal, ecc.

**Giarrè.** Rileva l'importanza della comunicazione fatta dal dott. Pacchioni, le cui ricerche dimostrano sempre più che la batteriologia non ha ancor detto l'ultima parola sulla questione dei vari bacilli emofili. Se, come risultò da una recente discussione di quest'Accademia, le tendenze attuali sono per riportare a un tipo unico di bacteri il bacillo di Koch-Weeks, il bacillo di Pfeiffer, e il bacillo descritto da Giarrè e Picchi nel morbillo, future ricerche batteriologiche che possono forse provare che tale ipotesi che adesso pare la più accettabile non è esatta. Intanto il dottor Pacchioni ha, dal pus di *artriti e meningiti postmorbillose*, isolato un bacillo emofilo molto patogeno pel coniglio come quello che Giarrè e Picchi avevano isolato da varie secrezioni delle muccose di morbillosi e dagli essudati di sierose colpite da flogosi durante e dopo il morbillo, e questo potere patogeno così spiccato non sarebbe invece stato da molti altri autori riscontrato nel bacillo di Pfeiffer. A tal proposito Giarrè riferisce un caso tipico d'influenza in un bambino, dalla secrezione bronchiale del quale ha coltivato quasi allo stato di purezza un bacillo emofilo che iniettato nelle solite dosi per via endovenosa nel coniglio non ha ucciso l'animale e conchiude quindi che occorre ripetere e moltiplicare simili esperienze per arrivare a conchiudere se il bacillo di Pfeiffer e quello così frequente nel morbillo sono identici o no.

**Mya.** Per la seconda volta nel corrente anno ho potuto seguire clinicamente ed anatomo-patologicamente una meningite cerebro-spinale fibrino-purulenta gravissima determinata, come risultò dalle ricerche del dott. Pacchioni già comunicate in questa ed in un'altra seduta, da un bacillo, che risponde, salvo qualche leggiera variazione, ai caratteri del bacillo di Pfeiffer. In entrambi i casi era preceduto a distanza più o meno grande il morbillo, il cui nesso colla determinazione della meningite non era immediato; ed entrambi si erano svolti in bambini lattanti. I casi di meningiti da bacillo di Pfeiffer sono sinora piuttosto rari e quindi l'importanza della comunicazione fatta dal mio assistente dott. Pacchioni

è notevole dal punto di vista della etiologia della meningite cerebro-spinale. Rilevo inoltre che in entrambi i casi alla meningite estesissima e caratterizzata da un essudato molto abbondante si associarono fatti di encefalite emorragica molto estesi tanto nel primo che nel secondo caso. Questi casi non hanno nulla che vedere colla etiologia del morbillo, e dimostrano soltanto la frequenza delle sierositi uniche o multiple come successioni del morbillo; ma la loro etiologia può essere varia, come risulta dalle ricerche batteriologiche fatte quest'anno nel mio Istituto.

**Picchi.** Domanda al dott. Pacchioni quale era la forma del batterio nel sangue di coniglio.

**Pacchioni.** Nel sangue del coniglio prevalevano le forme bacillari piuttosto lunghe.

**Flora.** Desidera sapere se in casi di meningite da bacillo emofilo il prof. Mya osservò qualche volta la guarigione, e ricorda a questo proposito un caso pubblicato dal Bozzolo ed un altro descritto nella Clinica medica di Firenze, ambedue seguiti da guarigione.

**Mya.** I due casi seguiti nella mia Clinica furono gravissimi per l'estensione dell'essudato meningeo e per l'associazione della encefalite, ed in entrambi l'esito letale era inevitabile, data la intensità delle lesioni anatomo-patologiche. In Italia non mi risulta siano stati pubblicati altri casi analoghi a' miei. Ricordo soltanto i casi di polio-encefalite superiore da influenza pubblicati dal prof. Bozzolo, nei quali peraltro non esistevano segni di meningite, ed i quali non hanno analogia clinica, ma soltanto etiologica con quelli osservati da me.

**Lustig.** Domanda quale è il reperto istologico del sangue in queste meningiti da b. emofilo.

**Pacchioni.** In un caso osservò una lieve leucocitosi.

**Lustig.** Sarebbe interessante ricercare quale è l'azione sugli animali dei prodotti tossici di questo microrganismo.

**Pacchioni.** Ha già iniziato delle ricerche in questo senso e terrà conto del consiglio del prof. Lustig.

**Dott. T. Stori.** — *Contributo allo studio dell'etiologia del piede varo-equino congenito.* (Con presentazione di un caso).

In una delle ultime sedute dell'Accademia furono riassunte e discusse le teorie intorno all'etiologia del piede torto, accennando fra le altre alla teoria meccanica.

In questa, ammessa da Ippocrate e sostenuta in questi ultimi tempi dal Lüke, dal Volkmann, ecc., hanno grande importanza certi segni particolari che si riscontrano sul feto, quali ombelicature speciali sulla pelle, impronte cicatriziali, in corrispondenza delle quali l'esame istologico ha dimostrato l'assenza di glandule della pelle e dei peli ed una sottigliezza spiccata dell'epidermide e del derma. Questi fatti sono stati messi in

rapporto con compressioni esercitate sul feto nella cavità uterina dalle pareti uterine stesse o da briglie amniotiche o da disposizioni speciali del funicolo.

I casi che si conoscono in appoggio di questa teoria non sono numerosi ed è per questo che ne presento uno capitato da poco nella Clinica chirurgica di Firenze.

Rossi Giuseppe di tre mesi, ha genitori sani e robusti. La madre, benchè di bassa statura, non presenta tracce di rachitismo, non ha alcun tumore del bacino o degli organi in esso contenuti; ha avuto quattro figli nati a termine, di cui tre godono buona salute, il quarto è quello di cui si parla.

La donna non ebbe a soffrire disturbi durante la gravidanza di questo ultimo bambino. Il parto è venuto a termine, non laborioso, con liquido amniotico scarso.

Il bambino è nato in posizione cefalica, con gli arti inferiori avviluppati dal cordone ombelicale che li manteneva fissi nella posizione seguente: le coscie abdotte e quasi estese sul bacino, le gambe flesse sulle coscie ed incrociate fra loro, i piedi in posizione equino-vara esagerata.

Anche ora gli arti inferiori stanno in rotazione esterna. I muscoli sono contratturati, di modo che non è possibile l'estensione delle gambe che in leggero grado.

Un fatto degno di nota è che esistono in corrispondenza della parte più sporgente delle ginocchia due ombelicature quasi d'aspetto cicatriziale, estese per circa due centimetri quadrati, ed una alquanto più piccola ne esiste sulla faccia più prominente dorsale del piede sinistro.

L'esame elettrico ha dimostrato la mancanza di reazione del quadricipite femorale alla corrente galvanica e faradica.

Quale la causa di questa deformità?

Che non sia prodotta da malattia sopraggiunta dopo la nascita è accertato dall'affermazione dei genitori.

È un'affezione congenita. Per spiegarla non si può ricorrere alla teoria della malformazione ossea primitiva sostenuta da Scarpa, Hueter, Lannelongue, Thorens, ecc. perchè in oggi non è dimostrata applicabile altro che in casi di eccezionale rarità, specie se manca qualche osso; e questo è generalmente lo scafoide. Ciò che non si ha nel caso nostro.

La teoria atavica o dell'arresto di rotazione del piede (Mekel, Breschet, Eschricht) benchè da pochi accettata pure potrebbe essere invocata per quei casi nei quali il piede è in posizione equina.

Nel caso nostro invece la posizione è prevalentemente vara.

Le alterazioni muscolari che abbiamo notato nel nostro bambino potrebbero far credere che la teoria muscolo-nervosa, trovasse in quelle un appoggio, però come abbiamo veduto le maggiori alterazioni sono nel quadricipite femorale, anzichè nei muscoli della gamba sotto la cui azione è in rapporto diretto la funzionalità del piede. Quindi tale teoria

se può bastare a spiegare l'alterazione del muscolo, è insufficente a interpretare la deformità del piede.

Per il caso nostro dobbiamo piuttosto ricorrere alla teoria meccanica.

La deformità del piede è dovuta alla cattiva posizione assunta dagli arti negli ultimi tempi della gestazione, ossia i ripetuti attorcigliamenti del funicolo attorno agli arti hanno ostacolato i movimenti di questi, specie la pressione delle coscie sul bacino, di modo che la pressione uterina ha agito su quelle parti modellandole in quella posizione viziosa che anche oggi si osserva.

Che il funicolo solo sia stato l'agente determinante la deformità non si può ammettere, perchè la pressione avrebbe dovuto esser tale da determinare dei disturbi circolatori per compressione dei vasi funicolari; il che non è avvenuto.

Ammesso adunque che il funicolo non possa esercitare che una debole compressione perchè i suoi vasi rimangano pervi, non si può escludere affatto la sua importanza nella produzione della deformità per la disposizione particolare che aveva assunto sugli arti inferiori. Le lesioni della pelle non sarebbero spiegabili che colla compressione sulle pareti uterine o colla presenza di briglie amniotiche.

A questo punto non ci sono dati per risolvere il quesito tanto più che le briglie stesse potrebbero essere state la causa dell'essersi mantenuta la posizione viziosa del funicolo. Quindi senza volere, come ho detto, risolvere in modo assoluto il problema, ho voluto aggiungere un caso agli altri riportati in appoggio della teoria meccanica del piede torto senza ascrivere più, come ha asserito il Bessel-Hagen, alla pressione del funicolo o di briglie amniotiche o delle pareti uterine.

L'inerzia a cui sono stati obbligati gli arti ha portato alla contrattura muscolare. Questa condizione è stata risentita in modo particolare dal quadricipite che si è trovato in continua tensione per la posizione quasi estesa della coscia. Questo stesso muscolo inoltre ha avuto una compressione continuata sulla sua estremità inferiore, che ha contribuito fino da principio ad ostacolare la sua funzione e quindi a provocare la degenerazione del suo tessuto attivo muscolare.

La teoria meccanica trova qui la sua applicazione, essa però non si può generalizzare a tutte queste deformità ed è forse alla teoria nervosa che spetta l'interpretazione della maggior parte di queste alterazioni.

**Chiarugi.** Fa notare che la testa del bambino ha una leggera deficenza di sviluppo e che le fontanelle sono più piccole che in condizioni normali. Domanda quindi di ricercare se la teoria nervosa non potrebbe avere qui una applicazione.

**Mya.** Le alterazioni evidenti dello sviluppo del cranio del bambino presentate dal dott. Stori, indicanti un'alterazione di sviluppo del sistema nervoso centrale deporrebbero in favore della teoria nervosa.

**Luisada**, che ha fatto l'esame elettrico del bambino, dà maggiori particolari sul risultato ottenuto. Sui nervi e muscoli anteriori della coscia non si riesce a destare contrazione colla corrente galvanica e faradica. Sul nervo peroneo e muscoli da esso innervati, si ha debole contrazione colla galvanica e debole, ma evidente, anche colla faradica. Su tutti i flessori si ha contrazione vivace e normale tanto colla faradica che colla galvanica sia a destra che a sinistra. Sui glutei e muscoli posteriori della coscia sebbene un po'indebolita, si ha contrattilità vivace e per forma normale.

**Stori.** Colla teoria meccanica si possono anche spiegare i fatti rilevati dal prof. Chiarugi. Dato l'atteggiamento particolare descritto del bambino nella cavità uterina, questi viene ad occupare una lunghezza maggiore della fisiologica, e subire una pressione maggiore all'estremità dell'ovoide fetale, pressione che ha ostacolato lo sviluppo normale della testa.

**Lustig.** Domanda se è stato possibile riscontrare disturbi della minzione e della defecazione.

**Giuntoli.** Vuol sapere se vi è stato strabismo.

**Stori.** Non si sono verificati mai disturbi di nessun genere dacchè il bambino è in Clinica.

**Dott. Giuseppe Levi.** — *Sullo sviluppo del pronefros degli Anfibî.* (Con presentazione di preparati).

È a tutti noto che nell'ontogenesi degli Anamnî appaiono ad epoche diverse due sistemi escretori, il pronefros il quale assume un notevole sviluppo, ma poi regredisce, ed il mesonefros il quale diviene il rene definitivo.

Io ho studiato lo sviluppo del primo di questi organi nella Salamandrina perspicillata.

Per quel che riguarda i primi studî cercherò di esser breve, poichè i miei risultati su questo punto coincidono nelle loro linee essenziali con quelli ottenuti da Nollier e da Field in altre specie d'Anfibî; è sullo sviluppo ulteriore di quell'organo che le mie ricerche misero in luce alcuni fatti nuovi.

Il primo abbozzo del pronefros appare in embrioni di Salamandrina con 5 somiti mesodermici sotto forma di un ispessimento della somatopleura, nel punto in cui questa lamina si continua nella parete dorsale del somite, all'altezza del 1° e del 2° segmento del tronco.

In seguito quest'ispessimento si fa più rilevante e sporge verso l'ectoderma sollevandolo alquanto; e questo stadio ha l'apparenza di una vera piega della somatopleura.

Da quella si differenzia più tardi una porzione dorsale (i nefrostomi ed il canale orizzontale che li congiunge) ed una porzione ventrale (tubulo ventrale del pronefros).

In embrioni di 4 mill. ciascuno dei 2 nefrostomi s'apre in un diverticolo del celoma, completamente separato dal rimanente (camera del pronefros), il tubulo ventrale descrive una curva con convessità ventrale e si continua in direzione caudale nel dotto di Wolff.

L'ulteriore accrescimento dell'organo, diviene, come aveva già osservato Fürbringer nel triton (alp.), per accrescimento del tubulo ventrale; e poichè questo avviene in uno spazio ristretto, il tubulo s'incurva su sè stesso. La porzione dorsale rimane pressochè invariata.

Per studiare minutamente tali modificazioni mi servii del metodo delle ricostruzioni plastiche (metodo di Born). In larve di 6 mill. il tubulo suddetto descrive una vera S italica. Più tardi la convessità craniale dell'S descrive complicate sinuosità, per le quali l'organo s'accresce notevolmente in direzione dorso-ventrale. Dal tubulo ventrale si parte inoltre un diverticolo a forma ovale.'

In un periodo dello sviluppo che coincide col riassorbimento del deutoplasma (in larve di 11-12 mill.) lo spazio occupato dall'organo si riduce in estensione, non per riduzione di volume dei suoi canalicoli, alcuni dei quali anzi si fanno più ampî, ma per il raccogliersi di questi in uno spazio più ristretto, in modo che le pareti di essi sono a contatto fra loro; tutta la porzione ventrale viene ad avvicinarsi alla porzione dorsale; le sinuosità descritte dal tubulo ventrale si trasformano in una spirale, la quale si spinge per un buon tratto cranialmente al 1° nefrostoma.

Il pronefros s'accresce ancora alquanto e poi si mantiene pressochè invariato, finchè in larve di 20 mill. incomincia a regredire.

Il glomo incomincia a formarsi in larve di 7-8 mill., sotto forma di 2 gruppi di cellule mesenchimali, i quali appaiono sulla faccia mediale della camera del pronefros, ventralmente all'aorta.

In larve di 9 mill. il glomo ha già l'aspetto di un organo vascolare il quale riceve un vaso dall'aorta e sporge nella camera del pronefros, la quale nel frattempo si è aperta nel celoma.

In quanto alla struttura del pronefros, io osservai che di pari passo alla diminuzione del deutoplasma i suoi elementi diminuiscono di volume; ma la differenziazione di questi ultimi s'inizia soltanto quando quella sostanza accenna a scomparire. Questo processo di differenziazione è caratterizzato:

1° dalla comparsa di lunghi flagelli sulla faccia libera delle cellule dei tubuli nefrostomali;

2° da una struttura bastonciniforme che si presenta nelle cellule di una determinata porzione del tubulo ventrale (tratto a decorso spirale).

Le cellule del canale reuniente e del diverticolo ovale, nonchè quelle del tratto più prossimale del tubulo ventrale, sono più voluminose di quelle a struttura bastonciniforme e non presentano alcun carattere specifico.

I flagelli di cui feci cenno sopra sono impiantati in una zona circoscritta delle cellule del nefrostomo, sulla quale s'osserva un orletto striato. La porzione di citoplasma interposta fra nucleo ed orletto si colora molto intensamente.

Nel glomo ho osservato in gran numero delle grandi cellule cariche di pigmento ed inoltre sfere di deutoplasma libero.

*Il Segretario degli Atti*
C. Comba.

## Adunanza pubblica del dì 17 Giugno 1902.

Presiede il Prof. G. FANO, *Presidente.*

Sono presenti i Soci: Bessone, Bottazzi, Caccia, Colzi, Comba, Corsini, Filippi, Giarrè, Giuntoli, Levi, Ligorio, Livini, Lustig, Mya, Orefici, Pacchioni, Pellizzari, Picchi, Pieraccini, Stori, Tonarelli.

**Dott. Dante Pacchioni.** — *Poliartrite purulenta determinata dal « Diplococco intracellulare di Weichselbaum »* (con presentazione di culture, di preparati microscopici e di radiografie).

Per consiglio del Prof. Mya ho studiato il caso clinico assai interessante che oggi presento a questa Accademia.

Si tratta di una bambina di anni 2 ½, Cor. F., la quale fu accolta in Clinica il 24 marzo 1902, essendo ammalata di morbillo. Nell'anamnesi remota non si riscontra altro che un lieve eczema impetiginoide del cuoio capelluto, e una enterite cronica, la quale incominciò al 16° mese e con alternative di miglioramenti e di peggioramenti perdurò fino al giorno di ammissione nell'ospedale. Niente nel gentilizio. Quando la bimba entrò in Clinica si riscontrarono i fenomeni prodromici del morbillo (arrossamento congiuntivale, scolo nasale, gengivite, segno del Köplik e febbre). L'eruzione si fece manifesta due giorni dopo. Fino dal principio della malattia si manifestarono fatti di broncopolmonite a focolai multipli, i quali andarono in pochi giorni sempre più estendendosi. In seguito si formò una pleurite essudativa a destra, e con la puntura toracica si estrassero alcuni cm³ di liquido siero-fibrinoso, torbido; che, seminato nei comuni terreni di cultura, diede sviluppo di diplococco lanceolato. Essendosi manifestato un caso di vaiolo nel padiglione, la bambina venne vaccinata il 1° di aprile. Si formarono due pustole che decorsero in modo regolare. Il 15 di aprile, mentre che nei giorni an-

tecedenti si era verificato un certo miglioramento, la bambina improvvisamente peggiorò; la temperatura salì a 40°, 5, vi era agitazione, lamento insistente e indebolimento notevole a tutti gli arti. Il 16 aprile i due ginocchi erano tumefatti, dolenti e la cute era pochissimo arrossata e calda; non vi era edema cutaneo. Dopo due giorni si tumefecero anche le articolazioni tibio-tarsiche. Intanto comparve un'eruzione vescico-pustolosa generalizzata con i caratteri della vaioloide; fu inviata al Lazzeretto. Tornò in Clinica l'8 maggio completamente guarita della vaioloide. Persisteva sempre la tumefazione dei due ginocchi, specialmente del sinistro, e dei colli dei piedi. Era apiretica. Alla fine di maggio ricomparve la febbre e in breve si notarono i sintomi di infiammazione della articolazione della spalla sinistra: dolore nei movimenti e alla pressione, immobilità, tumefazione, e in seguito fluttuazione. Il periodo acuto durò circa 6 giorni. All'esame del sangue si notò un lieve aumento dei globuli bianchi, specialmente dei linfociti, e 3,800,000 globuli rossi. Le orine furono sempre normali. Un'altra articolazione colpita fu il gomito destro, ma qui però la flogosi fu più mite e di più corta durata. Non presentò mai nessun fenomeno a carico del sistema nervoso. Attualmente da circa una settimana è apiretica, incomincia ad ingrassare e le articolazioni della spalla sinistra e del gomito destro sono quasi del tutto indolenti e molto meno tumide, però i ginocchi specialmente il sinistro, come si può vedere da questa fotografia, si mantengono sempre abbastanza tumefatti. Presento anche la radiografia dei ginocchi per far vedere come la tumefazione interessi soltanto le parti molli periarticolari, essendo i capi ossei articolari poco o punto ingrossati.

A complemento del caso devo aggiungere che la bambina quando entrò in Clinica presentava una lieve vulvite purulenta. Nel pus, tanto allora, quanto in esami successivi, non fu mai riscontrato il gonococco di Neisser, ma solo dei bacilli corti e tozzi, dei cocchi isolati e dei diplococchi rotondi, grossi, sia extra che intracellulari. La vulvite fu trattata con semplici lavande al permanganato di potassio e guarì completamente in circa 10 giorni.

Praticai delle punture delle articolazioni malate ricavando sempre delle piccole quantità di pus denso, biancastro.

Il pus era molto corpuscolato e predominavano i leucociti polimorfonucleati. Conteneva una scarsa quantità di cocchi. Essi solo raramente erano liberi, per lo più invece erano inclusi entro le cellule del pus. Generalmente appaiati, circondati talora da un alone, rotondi o lievemente appiattiti nella loro faccia di congiunzione, a chicco di caffè o a semel talora, ricordavano molto l'apparenza del gonococco. Si decoloravano con il Gram, però non tanto celermente.

Seminai il pus nel brodo, nel siero di maiale, nell'agar semplice, in quello glicerinato e in quello con sangue di piccione. Nel brodo ebbi scarso intorbidamento omogeneo, polverulento; nel siero di maiale scarsissimo

sviluppo di piccole colonie rotonde, pianeggianti; nell'agar semplice e nell'agar glicerinato lento sviluppo di colonie rotonde, piccole, rilevate, bianche, poco umide, le quali col tempo confluirono formando una patina abbastanza spessa. Nell'agar con sangue ottenni abbondante sviluppo di piccole colonie rugiadose, da prima isolate e poi confluenti in una sottile patina. I primi trapianti eseguiti in agar semplice rimasero sterili, mentre le culture riescivano sempre positive nell'agar con sangue. Soltanto dal terzo trapianto in agar-sangue, potei ottenere sviluppo nell'agar semplice, dove il microrganismo cresceva lentamente a piccole colonie, rotonde, rilevate, biancastre, confluenti. In seguito nei successivi trapianti è sempre cresciuto nell'agar semplice, anzi sempre meglio è avvenuto lo sviluppo. Non cresceva nè in gelatina, nè sulle patate. Nel siero di maiale e in quello di bove, solidificati, è sempre cresciuto stentatamente. Le prime culture avevano una vitalità breve, di 1 giorno solo, le ultime ottenute vivevano per 4 giorni.

Nelle culture il microrganismo ha una forma nettissima di cocco, rotondo. È isolato o riunito a due, mai a catenelle; frequenti sono le riunioni a quattro. Alcuni individui sono assai più grossi degli altri, ed anche in una stessa coppia talora un cocco è il doppio dell'altro. Si decolora con il Gram però non tanto facilmente e non uniformemente.

Riguardo alla sua azione patogena ecco quanto ho osservato. Con il pus diluito nel brodo non ottenni la morte nè nei topolini, nè nei conigli. Con le brodo-culture di 24 ore o con la patina delle culture in agar diluita nell'acqua di condensazione, ebbi la morte di un coniglio a cui avevo iniettato entro una vena dell'orecchio 2 $cm^3$ di brodo-cultura, e di due topolini bianchi, che erano stati iniettati con $^1/_2$ $cm^3$ di patina diluita sia entro il peritoneo, che sotto cute. Le iniezioni peritoneali o entro il rachide in 2 conigli non diedero nessun fatto notevole. Le cavie sopravvissero sempre.

Con questi caratteri di forma, di cultura e di azione patogena mi sembra che si possa classificare tale microrganismo. Da principio, quando ancora non mi era possibile ottenerne lo sviluppo in agar semplice, ma solo in quello con sangue, io oscillavo tra tre ipotesi: o si trattava del diplococco intracellulare di Weichselbaum, o del gonococco di Neisser, o, come ultima ipotesi invero molto arrischiata, di una forma di involuzione di quel bacterio emofilo che avevo riscontrato in alcune complicanze del morbillo. Ma le speciali apparenze delle culture, lo sviluppo costante e facile nell'agar semplice, appena che il microrganismo si potè adattare alla vita saprofitica, mi persuasero che si trattasse realmente del diplococco intracellulare di Weichselbaum. Infatti i suoi caratteri morfologici sia nel pus che nelle culture, il modo di svilupparsi nelle culture da prima a colonie separate e poi a patina, l'azione patogena negli animali, coincidono con la descrizione che molti autori hanno data di questo microrganismo. E se per qualche piccolo

carattere, come lo sviluppo invero non molto rapido e lussureggiante nei comuni terreni, la discreta tenacità nel decolorarsi col Gram, la bianchezza delle colonie anche se vecchie, il poco sviluppo nel siero di sangue, esso si allontana un poco dalla classica descrizione data da Weichselbaum, non mi credo autofizzato a separare questo microrganimo dal diplococco intracellulare, tanto più che oggi si tende a raggruppare con esso perfino delle forme che si sviluppano in gelatina e sulle patate, e che resistono completamente al Gram, come la varietà Jäger e Heubner.

Mi sembra quindi di poter ammettere che questa poliartrite purulenta sia realmente dovuta al diplococco intracellulare di Weichselbaum. Nella letteratura esistono, per quanto io sappia, altri due casi di artrite da diplococco intracellulare, uno di Fronz e l'altro di Netter; però in questi casi si trattava sempre di complicanze articolari in soggetti affetti da meningite purulenta da meningococco.

Un quesito assai importante è l'indagare quale possa essere stata la porta d'ingresso di questa infezione. Per le ricerche di Weichselbaum, di Jäger, Heubner, Schiff ed altri, si sa che esso si riscontra frequentemente nel secreto nasale anche di individui sani; recentemente è stato trovato anche nei bronchi di bambini sani. Sembra quindi che esso sia un ospite assai frequente del nostro organismo. Una sede che ancora deve essere studiata da questo punto di vista è la vulva; le ricerche batteriologiche eseguite fino ad oggi hanno dimostrata la presenza frequente del cosiddetto pseudogonococco, che per molti caratteri si avvicina al meningococco. Ma quali siano realmente i rapporti fra questo microrganismo e il meningococco è prematuro lo stabilire. Disgraziatamente, perchè allora non ve ne era motivo, non praticai culture nè dal naso, nè dalla vulva di questa bambina; quindi la porta d'ingresso della infezione rimane ancora per me completamente ipotetica, tanto più che vi è di mezzo anche la vaccinazione e la vaioloide.

Il caso presente è anche di una certa importanza da un altro punto di vista, cioè, da quello della sua successione alla infezione morbillosa. Esso sta a dimostrare che nel morbillo possono svolgersi processi purulenti sostenuti da varî microrganismi. Così in alcuni casi di pleurite purulenta Giarrè, Picchi ed io abbiamo trovato un bacterio emofilo del tutto simile a quello di Pfeiffer. In questo stesso caso per di più avemmo una pleurite da diplococco; come pure in un altro caso, recentemente accolto in Clinica, si manifestò una pleurite diplococcica circa 1 mese dopo la scomparsa dell'eruzione morbillosa. Avemmo in Clinica anche un caso di meningite purulenta post-morbillosa da diplococco. Ho creduto di fare queste osservazioni perchè nel concetto recente di una possibile specificità del suddetto bacterio emofilo pel morbillo, non si deve tener conto solo di quello che sta in favore, ma anche di quello che sta contro. E già che sono su questo argomento, mi sia permesso di ag-

giungere, che in questi ultimi giorni in un bambino (S. B.) accolto in Clinica perchè ammalato di broncopolmonite, si è sviluppata una pleurite purulenta determinata dal bacterio emofilo, senza che questo bambino abbia mai avuto il morbillo. L'unica malattia che esso ha sofferto fu 8 mesi fa, e per la descrizione data dai parenti sembra che sia stata una lieve bronchite. Il bacterio contenuto nel pus per la sua apparenza polimorfica, per i suoi caratteri culturali, per la sua azione patogena negli animali, si è dimostrato identico a quello isolato nelle complicanze purulente del morbillo.

**Giarrè.** Domanda quali furono i mezzi di cultura usati pel pus pleurico, e se la bambina non presentò per avventura segni di vulvite purulenta. Se ciò fosse, essendovi in primavera stato nello Spedale Meyer un certo numero di casi di vulvite blenorragica, specialmente in bambine morbillose, sarebbe naturale domandarsi se realmente il microorganismo isolato dal dott. Pacchioni dal pus articolare sia un *meningococco* o non piuttosto un *gonococco*, di cui è nota l'importanza come agente di infiammazioni acute delle articolazioni. I caratteri differenziali riferiti dal dott. Pacchioni gli sembrano insufficienti poichè, se è vero che il cocco da lui isolato potè previo passaggio in agar sangue esser poi coltivato anche in agar semplice, sta il fatto che i tentativi iniziali di colture in brodo e agar semplice riuscirono infruttuosi, e non si può escludere che un batterio abitualmente non coltivabile in agar semplice come il gonococco, possa divenirlo quando sia prima cresciuto in agar sangue.

Riguardo poi alle conclusioni del dott. Pacchioni osserva che il caso da lui studiato non parla nè prò nè contro l'ipotesi che un *bacillo emofilo* frequentemente riscontrato in alcune polisierositi postmorbillose possa essere l'agente specifico del morbillo, essendo cosa a tutti nota che in molte malattie infettive successioni o complicanze morbose possono esser provocate tanto dall'agente specifico della infezione primitiva, come da altri agenti patogeni, e ricorda che nella questione del morbillo tanto lui quanto Picchi non hanno mai voluto dare una grande importanza al frequente reperto del bacillo emofilo nelle sierositi postmorbillose, sibbene piuttosto alla quasi costante sua presenza e prevalenza nelle muccose oculare, nasale e bronchiale durante il periodo prodromico e il periodo eruttivo. Questo gli sembra il campo d'osservazione, nel quale debbonsi specialmente accrescere le ricerche, e il punto che occorre meglio approfondire e spiegare.

**Pacchioni.** Le culture dal pus pleurico furono eseguite tanto in agar semplice, quanto in agar sangue; si ebbe sviluppo di solo diplococco lanceolato.

Riguardo alla seconda domanda dichiara che la bimba realmente ebbe una vulvite purulenta; ma nel pus non fu mai trovato il gonococco e l'affezione guarì in circa 10 giorni con semplici lavande al permanganato di potassio. Esclude assolutamente che la vulvite fosse di origine gonococcica.

In quanto al cocco trovato nel pus articolare, ad onta delle osservazioni fatte dal dott. Giarrè, ritiene sempre che sia il diplococco intracellulare del Weichselbaum ed esclude assolutamente che possa trattarsi del gonococco. Contro questa ipotesi del dott. Giarrè, oltre il decorso e la sintomatologia clinica delle affezioni articolari, stanno i seguenti fatti: il facile sviluppo nell'agar semplice nel quale, come tutti sanno, il gonococco non cresce; la vitalità abbastanza lunga del microrganismo (4 giorni); l'aspetto delle culture; la tenacità nel decolorarsi col Gram; l'azione patogena sugli animali; e l'aspetto morfologico del microrganismo tanto nel pus che nelle culture. L'ipotesi poi che ha emesso il dott. Giarrè, che cioè la presenza del sangue nel primo terreno adoperato, abbia reso possibile di svilupparsi in agar semplice al microrganismo, che egli sospetta essere il gonococco, è del tutto insostenibile, perchè si sa che queste proprietà di sviluppo così artificialmente acquisite dai bacteri, sono di corta durata, ed invece oggi l'O. è arrivato al 5° trapianto in agar semplice.

Crede di non essere stato ben interpetrato dal dott. Giarrè riguardo alla ultima quistione; ha parlato dei rapporti fra il morbillo e la poliartrite soltanto per dimostrare che in seguito al morbillo si possono sviluppare delle complicanze purulente dovute non solo al bacterio emofilo, ma anche a varî altri microrganismi.

**Colzi.** Domanda quale fu il decorso clinico delle affezioni articolari; se vi era edema periarticolare, rossore della pelle e fissità delle articolazioni, e quale fu la durata del periodo acuto.

**Pacchioni.** Le articolazioni erano moderatamente tumide, assai dolenti, la cute che le ricopriva era pochissimo arrossata, non vi era edema cutaneo, i movimenti erano limitati per il dolore. Il periodo acuto alla spalla durò soltanto 6 o 7 giorni.

**Mya.** Alle altre sierositi studiate quest'anno nella sua Clinica come successione del morbillo è lieto di poter aggiungere questo nuovo caso molto interessante di poliartrite purulenta determinata dal diplococco intracellulare di Weichselbaum. Nella corrente epidemia morbillosa le sierose mostrarono una speciale tendenza alle successioni infiammatorie, che ebbero però svariati agenti patogeni: diplococco pneumonico di Fränkel, diplococco di Weichselbaum, streptococco piogeno, e bacillo emofilo di Pfeiffer. Non può ammettere che nel caso in questione si sia trattato di un'artrite gonococcica, perchè l'agente patogeno isolato non risponde ai caratteri, che la batteriologia assegna al gonococco; e perchè la bambina non fu mai affetta da vulvo-vaginite gonococcica.

**Lustig.** Nei preparati presentati dal dott. Pacchioni egli ha notato dei fatti che stanno contro l'ipotesi che il microrganismo in questione sia il gonococco. Infatti si trovano scarsi cocchi racchiusi nel protoplasma dei leucociti. Di più il fatto di aver ottenuto uno sviluppo abbastanza rigoglioso nei comuni mezzi di cultura sta pure contro il gonococco.

**Pellizzari.** Riguardo all'ipotesi enunciata dal dott. Giarrè, che il gonococco possa acquistare la proprietà di vegetare sopra i mezzi comuni di cultura dopo un primo passaggio su agar con sangue, egli osserva che il gonococco in generale perde rapidamente la sua vitalità nei trapianti. Da una cultura contenente siero di sangue si può ottenere per trapianto una vegetazione anche nell'agar semplice; ma su questo mezzo di cultura il gonococco muore presto e non è più possibile ritrovarlo nei trapianti successivi.

**Giarrè.** Obietta al prof. Pellizzari, che non si tratta di passaggio del gonococco da agar-siero a agar semplice, ma da agar-sangue ad agar semplice, e questa prova per quanto gli risulta, non è stata per ora fatta da alcuno. Al prof. Lustig risponde che in fatto di terreni di cultura in batteriologia non vi è nulla di assoluto, poichè microrganismi abitualmente non coltivabili in certi mezzi possono in date circostanze speciali adattarvisi e crescervi; cita l'esempio del bacillo di Koch-Weeks e di Pfeiffer, detti emofili perchè usualmente coltivabili solo in agar con emoglobina, mentre il primo è stato coltivato da Morax anche in agar-siero ed il secondo da Elmassian in agar-siero e da Kitasato perfino in agar semplice. Insiste quindi nel ritenere questo solo carattere differenziale insufficiente, tanto più che, come il dott. Pacchioni ha risposto, nel caso in questione vi fu la precedenza di una vulvovaginite, e in quel tempo vi era all'Ospedale un discreto numero di vulvovaginiti, che furono riconosciute per gonococciche.

**Dott. Carlo Tonarelli.** — *Casistica ed istologia dei tumori delle ghiandole salivali.*

L'O. presenta, come contributo alla miglior conoscenza della istogenesi dei tumori delle glandole salivari, osservazioni istologiche fatte sopra 11 casi operati nella Clinica chirurgica di Firenze. Di questi 6 appartengono alla parotide, 4 alla glandola sottomascellare, ed 1 originato in una delle glandole salivari molari.

L'esame microscopico dimostra che si tratta di encondroma puro in 2 casi, di sarcoma fuso-cellulare in uno, e di epitelioma ad epitelio pavimentoso in un altro. Gli altri 7 casi appartengono ai cosidetti tumori misti delle glandole salivari, e di questi l'O. cerca di dare l'interpretazione istogenetica, quale resulta dall'esame di numerose sezioni: si tratta di peritelioma in un caso, di emo-angioendotelioma in un altro, di linfo-angioendotelioma in 3 casi e di linfo-endotelioma interfascicolare in un caso.

Mettendo in relazione i resultati del suo esame istologico cogli argomenti che i varii osservatori portano in appoggio delle due opposte teorie (l'una delle quali afferma la natura epiteliale di questi tumori, mentre l'altra ne fa degli endoteliomi, cioè tumori connettivali della classe dei sarcomi), l'O. conclude, che nella risoluzione della questione intorno

alla natura di questi tumori non bisogna essere, come in generale sono stati fino ad ora gli osservatori, esclusivisti. Sono tumori che prendono sviluppo in organi glandolari, ricchi di vasi sanguigni e linfatici per le loro proprietà fisiologiche attive, e siti in regioni dove si effettuano complicati processi embriogenetici; non è quindi strano che in essi possano riscontrarsi tumori epiteliali a tipo glandulare o epidermico, tumori connettivali semplici, nonchè neoplasie di natura eterologa. Però è certo, e la statistica che l'O. presenta ne è una prova, che la maggior parte dei tumori cosidetti misti delle glandole salivari prendono origini dall'endotelio, e sono perciò degli endoteliomi, classe di tumori che merita oramai di essere ben distinta a sè, perchè ha il vantaggio di comprendere tutti i tumori, che in questi ultimi anni sono stati osservati e studiati in moltissime parti dell'organismo, e tutti provenienti da un elemento istologico attualmente ben conosciuto per la sua genesi, pel suo sviluppo e per il suo vario adattamento fisiologico. Gli errori d'interpretazione sono più che altro dovuti al fatto, che difficilmente questi tumori delle glandole salivari capitano all'osservazione nei primi periodi di sviluppo, e perciò gli osservatori basandosi sopra caratteri morfologici, non potendo ricorrere a dimostrazioni istogenetiche, giungono a conclusioni erronee per la grande rassomiglianza delle proliferazioni endoteliali mesodermiche colle epiteliali ectodermiche.

**Dott Luigi Lenzi.** *Su alcuni casi di affezioni congenite di origine branchiale.* (Non fu consegnato il manoscritto).

* * *

**Fano.** Essendo questa l'ultima adunanza prima delle vacanze estive avverte i soci che nell'intervallo fra luglio e novembre, quando abbiano lavori da presentare all'Accademia, potranno rivolgersi alla Presidenza che ne curerà la pubblicazione negli Atti.

*Il Segretario degli Atti*
C. Comba.

Domenico Cesare Bartolini, *Responsabile.*

Istituto di Anatomia Patologica di Firenze, diretto dal Prof. G. Banti.

# CONTRIBUTO ALLO STUDIO
DELLE
# ALTERAZIONI SPLENICHE NELLA CIRROSI EPATICA.

**DOTT. F. AZZURRINI**
IIº Aiuto.

Malgrado il grandissimo numero di ricerche che da Patologi di ogni paese sono state fatte sull'anatomia patologica della cirrosi epatica volgare, regnano ancora non poche oscurità ed incertezze sopra alcuni punti relativi a questa malattia..

Per citarne uno solo, conosciamo noi con sicurezza quali siano le cause che producono la splenomegalia, la quale quasi costantemente accompagna la cirrosi?

Sappiamo noi con certezza quali siano le modificazioni istologiche proprie della milza tumefatta?

Guardiamo cosa dicono in proposito i differenti autori.

Primo a notare come in certe affezioni del fegato, e più precisamente nelle cirrosi che colpivano gli individui dediti all' alcoolismo, la milza si presentasse di volume maggiore del normale, fu il *Bright* (1).

Egli però si limitò a constatare il fatto senza curarsi di ricercarne le cause.

Più tardi l'*Andral* (2) nel suo trattato di Anatomia Patologica così si esprime:

« C'est.... d'une manière toute mecanique, que la Rate s'engorge, augmente de volume et s'endurcit chez plusieures individus dont le foie athrophié, ne livre plus que difficilment passage à tout le sang de la veine porte »; e della sua opinione

sono molti autori, quali *Rokitansky* (3), *Orth* (4), *Strümpell* (5), *Birch-Hirschfeld* (6), *Billroth* (7), *Nikolaides* (8), *Sokoloff* (9), *Banti* (10) ed altri ancora.

Non tutti però concordano pienamente in questo.

*Von Jürgensen* (11) oltre alla stasi crede che all'ingrossamento della milza nelle cirrosi atrofiche del fegato concorra anche la iperplasia della polpa splenica.

*Liebermeister* (12) fondandosi sul fatto che talvolta fu trovata la milza ingrossata in casi in cui non apparivano esistere ostacoli alla circolazione nel territorio della vena porta (pur concedendo una certa parte alla stasi), è di opinione che ciò sopratutto dipenda da un aumento del tessuto connettivo interstiziale della milza stessa, il quale, causato dal medesimo agente che produce l'aumento del connettivo negli spazi interlobulari epatici, vi si formerebbe con un meccanismo del tutto simile a quello.

Per *Senator* (13) la stasi pure contribuisce al rigonfiamento della milza; ma però deve esistere qualche altra causa che non sa ben precisare non trovando nessuna spiegazione soddisfacente, perchè, egli dice, tale organo è per lo più molto presto e chiaramente ingrossato in un'epoca in cui altre stasi nel territorio della vena porta non esistono affatto, oppure soltanto in minimo grado; e persiste (benchè in grado minore) quando queste altre stasi diminuiscono.

*Ziegler* (14) nel suo trattato di Anatomia Patologica così si esprime:

« Un'altra forma di iperplasia splenica è rappresentata da quegli ingrossamenti della milza, che hanno luogo nelle cirrosi epatiche, e propriamente tanto in quelle con impiccolimento, quanto in quelle con ingrossamento dell'organo. Il tumore splenico nella cirrosi epatica, è simile ai tumori leucemici e pseudoleucemici; ma manca l'ingrossamento dei follicoli. Esso suole ordinariamente riguardarsi come effetto di una stasi sanguigna cronica, ma con ciò non sta d'accordo l'aspetto della polpa che è abbastanza molle, e non così rosso scuro come nelle milze da stasi. Oltre a ciò, la milza può essere molto grossa anche quando manchi la stasi.

« Nel moderato ingrandimento della milza la polpa è ricca di cellule rosse e bianche senza essere essenzialmente alterata nella struttura. Nelle milze molto ingrossate invece, la struttura della polpa può più o meno alterarsi, ed il tessuto reticolare essere in parte sostituito da tessuto connettivo ricco di grosse cellule, con sostanza fondamentale striata ».

*Weber* (15) combatte l'opinione di coloro, i quali sostengono che l'aumento di volume della milza nelle cirrosi epatiche sia dovuto alla stasi formantesi nel territorio della vena porta. Ciò in primo luogo, perchè nelle iperemie croniche venose in seguito a malattie di cuore si trova per lo più una milza piccola e dura, ed in secondo luogo si incontrano i più forti ingrossamenti della milza, non quando (come nella cirrosi atrofica) la ostruzione della vena porta è più gravemente pronunciata, ma nelle cirrosi biliari ed in quella ipertrofica di *Hanot*, nelle quali la stasi della vena porta è minima, e l'ascite manca fino all'ultimo.

Egli crede piuttosto che si tratti di una sostanza tossica la quale secreta dal fegato insieme con la bile, vada per la grande circolazione ad irritare il tessuto splenico; e ciò sostiene perchè afferma di aver notato come nelle cirrosi alcooliche esista sempre un leggero ittero che si accentua negli ultimi stadi, e che il tumore della milza è tanto più grande quanto più profondo è l'ittero stesso.

*Chauffard* (16) in una sua monografia sulle « hépatites d'origine splénique » mette in dubbio la esattezza di tutte quante le teorie fino allora emesse per spiegare la causa della splenomegalia nella cirrosi volgare del fegato; e, per suo conto, crede sia provvisoriamente permesso considerare l'origine splenica di buon numero di affezioni epatiche come una interpretazione possibile dei fatti, e più soddisfacente di tutte le altre poco valide e pressochè nulle.

*Cornil* e *Ranvier* (17) così scrivono nel loro trattato di Istologia patologica:

« Nelle malattie che portano un ostacolo nella circolazione del sangue nella vena porta, ed in particolare nella cirrosi epatica, la milza molto ipertrofizzata, avente almeno il

doppio del suo volume normale, possiede una capsula ispessita. Le vegetazioni formate sul foglietto peritoneale che la ricuopre, sono abitualmente molto numerose; e questa peritonite è in rapporto con l'ascite e con l'infiammazione peritoneale subacuta che accompagna sì spesso la cirrosi.

« In una sezione di taglio, la milza è di colore del sangue venoso. I suoi setti fibrosi sono abitualmente inspessiti.

« La polpa splenica mostra sovente delle cellule linfatiche con pigmento bruno o nero nel loro protoplasma attorno ai nuclei.

« Le vene della polpa sono abitualmente più larghe che allo stato normale; le trabecole connettivali che partono dalla capsula, e le trabeccle del tessuto reticolato della polpa sono normali a meno che non sieno un poco inspessite.

« L'ipertrofia della milza è dunque dovuta sopratutto alla distensione delle vene, ed un poco all'ispessimento delle trabecole fibrose. Le cellule linfatiche non sono in maggior numero che al normale ».

Nel 1894 il *Sieveking* (18) pubblicò alcune ricerche su vari casi di cirrosi atrofica del fegato in cui trovò le milze ora un poco ingrossate, ma per lo più piccole, di consistenza aumentata, e con la capsula alquanto inspessita.

Al microscopio riscontrò, capsula, trabecole e pareti vasali ingrossate ed un considerevole allargamento della rete della polpa splenica; ma in nessun punto osservò aumento delle fibre connettivali.

È favorevole all'opinione che si tratti di processi da stasi.

Lo segue l'*Oestreich* (19), il quale ha studiato otto casi di cirrosi epatica atrofica, dei quali alcuni nel periodo iniziale, altri in periodi più avanzati.

Di questi, in uno solo a lesioni epatiche molto gravi, ha potuto constatare nella milza aumento del tessuto connettivo ed atrofia della polpa splenica.

Negli altri sette ha quasi costantemente trovata la milza molto ingrandita, di consistenza molle o moderatamente dura, con superfici di taglio molto tumide e succose e parenchima fluente, di colorito talvolta rosso grigio, altre volte rosso cupo tendente al nerastro.

Al microscopio vi ha riscontrato il reticolo ovunque delicato, il tessuto interstiziale non aumentato, e normale o solo di poco accresciuto il contenuto sanguigno. Ha notato però come fatto prevalente e costante una rimarchevole iperplasia degli elementi cellulari della polpa splenica.

Mai osservò alterazioni dei follicoli del *Malpighi*.

Dopo una lunga serie di considerazioni, conclude col mettere completamente da parte la ipotesi che l' ingrossamento della milza consecutivo a cirrosi del fegato sia semplicemente dovuto alla stasi, e sostiene invece che la natura della tumefazione di essa è indipendente dal fegato, e dovuta a processi irritativi prodotti da sostanze tossiche, prima assorbite nella circolazione generale, ed agenti secondariamente dal sangue, sulla milza, come pure su tutti gli altri organi.

Nel 1898 il dott. *Zimmermann Friedrich* discusse la sua tesi inaugurale « Sulle alterazioni della milza nelle cirrosi epatiche ». La indicazione di questo lavoro io la trovai nella letteratura del 20° numero del *Centralblatt für Allgemeine Pathologie und Pathologischen Anatomie* del 1900, pag. 813.

Sarebbe stato mio desiderio di conoscere a quali conclusioni era giunto l' autore in seguito ai resultati ottenuti dalle sue ricerche, ma ciò mi fu impossibile non avendo trovata tale monografia su di alcun periodico scientifico, e non essendomi riuscito di ottenerla neppure dall' Istituto Patologico di Monaco (dove tale tesi fu eseguita e discussa), trovandosene esso pure sprovvisto.

* * *

Riassumendo le opinioni degli autori citati, si vede come alcuni credano che l' aumento di volume della milza nella cirrosi epatica volgare dipenda esclusivamente dalla stasi; altri che sia conseguenza di processi irritativi; altri infine che dipenda dall' una e dagli altri insieme: ed è notevole il fatto che le due più recisamente differenti fra di loro, trovino ognuna per sè, l' una appoggio nelle ricerche del *Sieveckiug*, l' altra in quelle dell' *Oestreich*, i quali, pure investigando sul medesimo argomento, vengono a differenti conclusioni dietro la scorta di reperti sia macroscopici che istologici, differentissimi fra loro.

Date quindi diversità così fondamentali nel modo di descrivere le alterazioni proprie della milza nelle cirrosi epatiche e di spiegarne le cause, ho creduto non inutile il riprendere questo studio, a ciò spinto dall'abbondante materiale che potevo trarre dalle sale anatomiche del nostro Istituto.

Ed infatti, tanti sono stati i casi che in poco più di due anni sono venuti alla mia osservazione che, messe da parte tutte le cirrosi distrofiche (arteriosclerotiche e per stasi sopraepatica), quelle di origine capsulare e biliare, quelle in cui la causa poteva ricercarsi nella sifilide e nella malaria, e quelle infine complicate da affezioni di altra natura di qualunque genere esse si fossero, ne ho potuti raccogliere ben venti, nei quali dall'anamnesi la natura alcoolica appariva manifesta.

Di questi, in tre la cirrosi era in un periodo iniziale; in tredici le alterazioni del fegato furono riscontrate abbastanza avanzate; in quattro, gravissime. Ciò mi ha permesso di dividerli in tre gruppi, per ognuno dei quali esporrò i risultati ottenuti.

Senza stare a riportare di ogni singolo caso e la storia clinica ed il reperto della sezione, sembrandomi ozioso il ripetere cose tanto uniformi tra loro, dirò subito come le lesioni riscontrate negli altri visceri non rappresentassero quasi mai la causa diretta della morte, meno in tre casi nei quali la morte era avvenuta per rottura di varici esofagee. Le alterazioni secondarie che o costantemente o più o meno frequentemente si trovavano nei cadaveri, consistevano in edema cerebrale, scarso versamento sieroso nelle cavità pleurali, e di queste più nella destra che nella sinistra, edema polmonare con lieve enfisema marginale, degenerazione grassa del miocardio, ateromasia dell'aorta più o meno grave a seconda dell'età degli individui, presenza di abbondante liquido sieroso limpido nel cavo peritoneale, opacamento del peritoneo, retrazione del mesentere, ispessimento delle pareti intestinali, considerevole raccorciamento dell' intestino, stasi dei reni, quando questi non erano colpiti da processi ateromatosi ecc. ecc.

Quanto ai metodi adoperati nelle ricerche, dirò che le fissazioni furono fatte in alcool a 96°, in soluzione satura di su-

blimato, nei liquidi del *Muller*, *Zencker* e *Foà*, e nella miscela del *Flemming;* e le colorazioni, con emallume del *Mayer* ed orange od eosina, con safranina, col metodo del *Bizzozero-Vassale* e con quelli del *Van Gieson*, *Hansen* e *Mallory-Ribbert*, i quali ultimi mi hanno dati eccellenti risultati per la dimostrazione del tessuto connettivale.

Per le valutazioni del peso e dei diametri della milza, io mi attenni a quanto è detto nel trattato di anatomia del *Testut*, secondo il quale il peso medio di tale organo oscilla fra i 180 ed i 200 grammi, la lunghezza è di circa 13 centimetri, la larghezza 8, e lo spessore dai 3 ai 3 $^1/_2$.

## I° Gruppo.

Al 1° gruppo appartengono, come ho già detto, tre casi di incipiente cirrosi epatica, dei quali, uno osservato in un uomo morto per frattura del cranio, gli altri, in un giovinetto di 16 anni ed in una ragazza di 23, ambedue morti in conseguenza della cirrosi stessa.

Nel primo non esisteva ascite, negli altri due, era piuttosto notevole.

In questi tre individui, il fegato era di volume normale o di poco diminuito, la capsula del *Glisson* leggermente opacata, le superfici esterne come sagrinate.

Le superfici di sezione apparivano inuguali per numerose granulazioni della grandezza massima di una veccia, molli, di colorito giallastro, rilevate, circondate da anelli di tessuto roseo-chiaro, più consistente. Al microscopio fu osservata una infiltrazione parvicellulare negli spazi triangolari con formazione di scarse fibrille di tessuto connettivo, circondanti incompletamente i lobuli epatici, le cui cellule erano in massima parte degenerate in grasso.

Negli spazi portali, le diramazioni venose apparivano ristrette nel loro lume vasale. Il loro rivestimento endoteliale era integro e tutt'al più esisteva una leggera tumefazione delle cellule endoteliali stesse; ma le loro pareti si mostravano piut-

tosto inspessite, costituite da tessuto fibroso compatto e circondate da un manicotto di cellule embrionali.

Le milze erano per volume e peso tre e quattro volte superiori al normale: i loro diametri ed il loro spessore uniformemente aumentati.

La capsula tesa e lucente presentava qua e là qualche leggero ispessimento. Il parenchima, piuttosto molle al taglio, fluente, succoso, appariva di colorito rosso-bruno uniforme.

Nelle sezioni colorate con emallume del *Mayer* e successivamente col metodo del *Van Gieson*, la capsula ed i sepimenti che ne partono, sono sottili e costituiti da un tessuto connettivale, fibroso, elastico, ricco di nuclei (tav. VIII, fig. 1 *a*, *b*).

Nella polpa splenica si trovano le vene ampie, dilatate, ripiene di globuli rossi ben conservati (tav. VIII, fig. 1 *c*).

I cordoni della polpa sono formati dal solito delicato reticolo il quale circoscrive delle maglie più ampie, ma meno regolari del normale.

Entro le cavità del reticolo, in minor quantità che nelle milze normali, si trovano scarsi leucociti polinucleati; linfociti e cellule mononucleari a nucleo piuttosto grande, rotondeggiante, circondato da un largo alone protoplasmatico, in discreta quantità; un certo numero di grosse cellule globulifere contenenti nel loro protoplasma, sia globuli rossi in via di distruzione, sia dei derivati emoglobinici; numerosissimi eritrociti in massima parte normali, in parte nei vari periodi di disfacimento; ed una discreta quantità di zolle e granuli di pigmento che, con ferrocianuro di potassio ed acido cloridrico danno la reazione del ferro (tav. VIII, fig. 1 *e*).

I follicoli del *Malpighi*, sia a piccolo, sia a forte ingrandimento, appariscono molto meno ricchi di elementi cellulari che al normale. Alla loro periferia, questi elementi sembra siano come allontanati fra loro, disposti irregolarmente, e non più a strati quasi concentrici e paralleli alla superficie del follicolo.

Fra gli elementi cellulari si vedono i capillari dilatati e ripieni di sangue; molte emazie si trovano pure fuori dei vasi mescolate ai linfociti del follicolo. I filamenti del reticolo sono esili e delicati, ma le maglie sono ampie ed irregolari.

Mano a mano che dalla periferia del follicolo ci si avvicina all'arteriola centrale si osserva però come, tanto questa dissociazione degli elementi normali dei follicoli, quanto la iperemia ed il numero dei corpuscoli rossi liberi vanno diminuendo fino a scomparire (tav. VIII, fig. 1 *d*).

Nei follicoli con centro germinativo, le forme cariocinetiche o mancano o sono molto scarse; e le grosse cellule che lo compongono sono spesso tumefatte, granulose per tumefazione torbida o degenerazione grassa, oppure anche si trovano in via di necrosi.

Ho avuto modo di confrontare tali reperti con quelli che si ottengono dall'esame di milze tratte da casi di vizi cardiaci scompensati seguiti in breve tempo da morte, e nei quali per conseguenza la stasi sanguigna fu di breve durata. Anche in questi casi si trovano alterazioni simili a quelle ora descritte.

Infatti, le sezioni di tali milze dimostrano una forte dilatazione di tutto il sistema venoso che apparisce ripieno di sangue; un ampliamento dei capillari dei follicoli malpighiani, specie alla periferia, con addensamento dei linfociti nelle zone circostanti all'arteriola centrale, e dissociamento di questi nelle parti periferiche dove, a causa della dilatazione dei capillari e della fuoriuscita da questi di globuli rossi, tali elementi cellulari rimangono allontanati l'uno dall'altro, in modo che i limiti dei corpuscoli appariscono irregolari e indistinti.

## II° Gruppo.

Al 2° gruppo appartengono 13 casi in cui le alterazioni del fegato furono riscontrate abbastanza avanzate per essere stata maggiore la durata della malattia.

In tutti esisteva notevole ascite.

I fegati, diminuiti di volume, oscillavano in peso fra un massimo di 1270 gr. ed un minimo di gr. 980. Le loro superfici esterne, di colorito roseo grigiastro, con la capsula del *Glisson* inspessita ed opacata, erano granulose. Le granulazioni giallognole, di volume vario fra un chicco di canapa ed una nocciola erano circondate da anelli di connettivo grigio roseo.

Uguale aspetto si aveva sulle superfici di sezione. Il parenchima epatico era duro e stridente al taglio.

Con l'esame microscopico fu osservato negli spazi portali un aumento notevole del connettivo, che circondava completamente uno o più lobuli. I rami portali interlobulari apparivano, più che nello stadio precedente, alterati da processi di endoflebite sclerotizzante. Delle cellule epatiche, alcune si presentavano in rigonfiamento torbido, altre degenerate in grasso.

Le milze, molto aumentate di volume, variavano in peso dai 350 ai 700 grammi. La loro capsula era inspessita ed opacata. Il parenchima, più consistente che al normale, mostrava sulle superfici di sezione un colorito rosso cupo uniforme.

Esaminandone al microscopio sezioni tratte da pezzi induriti nel bicromato o nei liquidi del *Foà* o dello *Zencker* e colorite col metodo già precedentemente descritto, si osserva la capsula inspessita e formata da grossi fasci di connettivo fibrillare ricco di nuclei allungati od ovali.

I fasci fibrosi che la costituiscono, appariscono dissociati, e negli spazi che ne risultano si vedono infiltrati dei globuli rossi. Uguale aspetto presentano i sepimenti e l'involucro connettivale che circonda i grossi vasi venosi.

Tutte le vene sono fortemente dilatate e ripiene di sangue (tav. VIII, fig. 2 *b*). In vari punti si notano delle lacune risultanti dalla rottura delle pareti di più spazi venosi che, confluendo fra loro, formano quasi dei laghi sanguigni.

I cordoni della polpa splenica conservano la loro tessitura reticolare. I filamenti del reticolo sono sottili e circoscrivono delle maglie alterate nella loro forma, allungate, quasi schiacciate, entro le quali, insieme a numerosi elementi sanguigni sono contenute le cellule proprie della polpa addossate ai filamenti del reticolo stesso, e mascherate dalle invadenti emazie.

Di cellule globulifere, come pure di emosiderina, non esiste traccia.

Invece, fra le cellule della milza si scorgono degli ammassi di pigmento di color giallo ocraceo costituito da grossi granuli irregolarmente rotondeggianti, del tutto simili ai granuli di ematoidina.

Si cominciano poi a notare negli elementi cellulari propri della polpa splenica, alterazioni dovute a processi degenerativi.

Così, insieme ad un ancor discreto numero di cellule con nucleo intensamente colorato, se ne osservano alcune in cui il nucleo è pallido, di apparenza vescicolare. In altre entro il nucleo si osservano dei vacuoli, in altre la cromatina si trova sotto forma di granuli irregolari che si tingono fortemente con i colori nucleari, in altre infine non è più possibile con questi svelare nessuna traccia di struttura cromatica. Una sostanza di aspetto vitreo lievemente opaca, del tutto simile a quella osservata dal *Sokoloff* nelle milze con stasi venose di lieve grado e descritta pure da *Martinotti* e *Barbacci* (20) nelle milze di cavie infettate col bacillo del carbonchio, avvolge le fibre dei grossi fasci connettivali ed i filamenti del reticolo e sembra conglutini fra loro le cellule della polpa ed i globuli rossi, essi pure in massima parte alterati e frammentati (tav. VIII, fig. 2 *c*).

Nei follicoli del *Malpighi* si trova una forte dilatazione dei capillari che sono ripieni di sangue. Questa alterazione è più intensa che nelle milze del I° Gruppo: al solito è più manifesta alla periferia dei follicoli, e diminuisce a misura che ci si avvicina all' arteria. I linfociti dei follicoli sono meno copiosi del normale, hanno una disposizione irregolare e sono mescolati ad una grande quantità di globuli rossi. Molti poi, a causa della forma non più regolarmente rotondeggiante e per il fatto di assumere le sostanze coloranti con molta minore intensità che normalmente, mostrano di essere alterati da processi degenerativi (tav. VIII, fig. 2 *a*).

Ho avuto occasione di esaminare anche una milza enormemente ingrandita a causa della completa chiusura della vena splenica per trombosi. La capsula, le trabecole (tav. IX, fig. 3 *a*) e le guaine avventizie delle grosse vene, appariscono ingrossate e costituite da robusti fasci di tessuto connettivo fibrillare. Fra fascio e fascio esistono delle lacune contenenti globuli rossi. I filamenti del reticolo hanno la loro sottigliezza normale. Tutte le vene sono fortemente distese da sangue (tav. IX, fig. 3 *b*). Qua e là si notano delle vaste lacune ripiene di emazie.

I cordoni della polpa splenica, compressi fra i seni venosi dilatati. contengono nelle maglie delimitate da un delicato reticolo linfoide, le cellule proprie della polpa splenica mascherate in parte dalla presenza di numerosi globuli rossi più o meno alterati. Una sostanza amorfa, che mostra speciale affinità con tutte le materie coloranti acide e che molto probabilmente è dovuta alla coagulazione del plasma sanguigno fuoriuscito dai vasi, involge i filamenti connettivali del reticolo e sembra conglutini fra loro gli elementi figurati della polpa.

Nei follicoli i capillari sono molto dilatati, soprattutto nelle regioni periferiche. I linfociti si vedono fittamente addensati all' intorno della arteriola, mentre a misura che si procede verso la periferia appariscono dissociati e circondati da globuli rossi (tav. IX, fig. 3 *c*). Di più, tanto le cellule proprie della polpa splenica quanto i linfociti dei follicoli, dimostrano in gran parte aver subito processi degenerativi rappresentati da rigonfiamento torbido del protoplasma, da vacuolizzazione dei nuclei, da frammentazione della sostanza cromatica e dalla scomparsa del nucleo stesso, la cui presenza non è più possibile svelare mediante i colori nucleari. Dei globuli rossi, parte appariscono ancora ben conservati, parte sono decolorati e dimostrano aver perduta la emoglobina, parte infine sono frammentati (tav. IX, fig. 3 *d*). Di cellule globulifere non esiste traccia.

Nella polpa splenica si nota una discreta quantità di granuli e zolle di un pigmento giallo ocraceo che non dà la reazione del ferro.

Le alterazioni ritrovate in questa milza da stasi non differiscono dunque da quelle esistenti nelle milze dei cirrotici appartenenti al II° Gruppo.

## III° Gruppo.

Al 3° gruppo appartengono quattro casi con lesioni epatiche gravissime, con versamento sieroso addominale imponente, opacamento ed inspessimento del peritoneo, retrazione del mesentere ed accorciamento di tutto l'intestino le cui pareti erano notevolmente ingrossate.

I fegati, molto diminuiti di volume, variavano in peso dai 500 ai 750 grammi.

La capsula del *Glisson* era grossa, opaca, di color biancastro: le superfici esterne, come pure quelle di sezione, inuguali e granulose, con granulazioni grosse, irregolari. Il parenchima epatico era molto duro e strideva sotto il coltello.

Al microscopio si osservano degli isolotti di cellule epatiche, circondati da larghe zone di tessuto connettivo denso, fibroso, quasi jalino, con poche cellule affusate o poligonali aventi l'apparenza dei fibroblasti.

Le cellule epatiche sono quasi tutte alterate o per processi degenerativi, specialmente il grassoso, o per necrosi jalina.

Le milze, aumentate di volume, variano in peso dai 230 ai 260 grammi. Sono avvolte da una capsula grinzosa, opacata, irregolarmente inspessita, con noduli biancastri fibrosi simili ai fibromi capsulari, e fortemente aderente, per numerose lacinie connettivali, al diaframma ed agli organi vicini. La loro consistenza è aumentata. Il parenchima, flaccido, di colorito rosso cupo tendente al nerastro, apparisce solcato da numerosi sepimenti larghi, biancastri, che lo traversano incrociandosi in tutti i sensi.

Se al microscopio si esaminano sezioni di tali milze colorate col metodo del *Mallory Ribbert*, il quale serve esclusivamente per mettere in evidenza il tessuto connettivo colorandone i fasci e le fibre in bleu intenso, mentre tutte le restanti parti rimangono incolore; noi possiamo osservare la capsula, le trabecole e le pareti delle grosse vene molto ingrossate e costituite da larghi fasci di tessuto connettivo denso omogeneo. Da queste emanano grosse fibre connettivali, dalle quali alla lor volta partono i filamenti del reticolo che a piccolo ingrandimento sembrano essi pure inspessiti, nastriformi. Osservandoli però con ingrandimenti molto forti si vede che l'ingrossamento è solo apparente e dato dal ravvicinamento di varii filamenti, che rimangono spostati e schiacciati per la forte dilatazione dei vasi venosi e dei capillari.

Osservando con forti ingrandimenti i preparati colorati con i metodi usuali, si trova nelle maglie della polpa splenica

un abbondante detrito granulare, di colore giallo mogano, che non si colora con l'acido osmico, che con l'eosina o l'orange prende una debole colorazione rosea o giallastra, che non dà la reazione del ferro. Questo detrito, che certamente proviene dal disfacimento delle cellule spleniche e degli elementi del sangue, avvolge i filamenti del reticolo e contribuisce a dare le apparenze che questi filamenti siano ingrossati. In mezzo a questi detriti si osservano pochi globuli rossi in massima parte frammentati e pochissime cellule proprie della polpa, le quali presentano un aspetto quasi omogeneo, con nucleo o non più riconoscibile, o che apparisce nell'interno del citoplasma come un corpiciattolo pallido avendo perduta la proprietà di tingersi con i colori nucleari. La tessitura reticolare linfoide non è però mai del tutto perduta, ed i vasi venosi sono sempre molto ampli (tav. X, fig. 5 *b*).

I corpuscoli del *Malpighi* sono molto diminuiti in numero, e sono riconoscibili per l'arteriola centrale, attorno alla quale si trovano irregolarmente disposti scarsi linfociti alcuni dei quali con nucleo ancora colorato, altri, in maggior numero, con nucleo che non si tinge con i consueti metodi (tav. X, fig. 5 *a*).

Queste medesime alterazioni ho potuto ritrovare nelle stasi croniche che si hanno in conseguenza di degenerazione grassa del miocardio, di ostacoli al circolo polmonare ecc.; giacchè qui pure le milze al microscopio mostrano la capsula, i sepimenti e le pareti delle grosse vene inspessite e costituite da larghi fasci di connettivo jalino.

Il reticolo linfatico sembra leggermente ingrossato. Le vene sono molto dilatate. I globuli rossi contenuti in esse e nel tessuto splenico sono in massima parte frammentati. Di cellule proprie della polpa ne rimangono pochissime e queste sono profondamente alterate per necrosi jalina. I corpuscoli del *Malpighi* notevolmente diminuiti per numero, sono rappresentati da scarsissimi linfociti con nucleo pallido quasi incoloro, disposti irregolarmente all'intorno dell'arteriola follicolare.

La massima parte degli elementi cellulari della milza, dopo aver subìto i vari processi degenerativi, si è disfatta e risoluta in ammassi granulosi che riempiono in parte od in

totalità gli spazi della polpa splenica e avvolgono i filamenti del reticolo.

Non mi fu dato mai riscontrare lesioni arteriose, tranne che quelle proprie dell' arteriosclerosi nei casi in cui questo processo morboso era generalizzato.

* * *

Alterazioni simili già da molto tempo sono state descritte nelle stasi sperimentali della milza, prodotte negli animali mediante la legatura della vena splenica.

Fin dal 1862, *Billroth* (21) in un suo lavoro « Zur normalen und pathologischen Anatomie der menschlichen Milz », accenna ad una dilatazione dei capillari, che osservò ripieni di sangue, ad un possibile ingrossamento della rete intervascolare e ad una diminuzione delle cellule della polpa e sostituzione di queste con masse molecolari a granuli fini.

*Foà* e *Carbone* (22), legando nelle cavie la vena splenica, osservarono in un primo periodo l'ingorgo di sangue in tutti i vasi e massime nelle distese lacune venose.

*Sokoloff* producendo sperimentalmente la stasi nelle milze di animali, trovò che gradi lievi di iperemia venosa conducono ad una sovrabbondanza di sangue nelle vene della polpa, ad un allargamento edematoso delle maglie del tessuto reticolare e ad un passaggio di corpuscoli rossi dai vasi sanguigni negli spazi della polpa; e nelle stasi venose di alto grado osservò che la quantità del sangue vi aumenta notevolmente producendo così il tumore di milza.

Nelle milze da stasi pure, la ripienezza di sangue delle vene e della polpa è secondo il *Sokoloff* ben chiara, e si estende (il che ha anche osservato nelle milze degli animali) fino nelle zone periferiche dei corpuscoli malpighiani, che appariscono perciò relativamente piccoli.

Nelle forme croniche questa sovrabbondanza di sangue gli risultò minore, mentre vide aumentate di grossezza la capsula, le grosse trabecole, le guaine avventizie delle vene e delle arterie e più tardi le fini trabecole della polpa e dei

corpuscoli del *Malpighi.* Alterazioni degli elementi cellulari non avrebbe notate. Solo ha osservato un aumento del pigmento ematico.

* * *

Riassumendo in poche parole le alterazioni che ho finora descritto, si vede come in un primo periodo esse consistono in una dilatazione considerevole dei vasi venosi della polpa splenica e dei capillari della zona periferica dei follicoli. Questi vasi sono ripieni da sangue: nel reticolo tanto della polpa, come dei follicoli si trovano i globuli rossi in numero assai maggiore del normale, molti dei quali in via di distruzione, come è attestato dalle cellule globulifere e dalle zolle e granuli di emosiderina. Nelle cellule dei follicoli e della polpa si trovano lesioni degenerative (tumefazione torbida, degenerazione grassa ecc.) non molto intense.

In un secondo stadio persistono e sono più accentuati i fatti della dilatazione delle vene e dei capillari, nella polpa e nelle parti periferiche dei follicoli. Il disfacimento dei globuli rossi è attestato dagli ammassi di ematoidina. Le alterazioni degenerative delle cellule della polpa e dei follicoli sono più gravi e giungono fino alla necrosi ialina.

In un terzo stadio persistono immutati od anche più intensi i fenomeni della dilatazione vasale. Le cellule della polpa e dei follicoli sono in gran parte necrosate e ridotte in un detrito granulare, che riempie le maglie del reticolo e circonda a maniera di manicotto i filamenti del reticolo stesso, insieme al pigmento di derivazione emoglobinica.

La capsula splenica ed i sepimenti fibrosi che ne partono divengono più grossi per un aumento del tessuto connettivale, che diviene più abbondante a misura che dal primo si passa al terzo stadio. Le arterie rimangono integre, a meno che non esista una concomitante arteriosclerosi.

I filamenti del reticolo tanto della polpa, quanto dei follicoli, non subiscono alterazioni apprezzabili, tranne quelle meccaniche dipendenti dalla deformazione delle maglie linfatiche. Soprattutto manca o è appena accennato un loro ingrossa-

mento. Quando questo sembra esistere, non è difficile persuadersi con un attento esame come sia più apparente che reale. Infatti esso dipende da due circostanze:

1° che per la distensione delle vene e dei capillari le maglie linfatiche rimangono schiacciate, e i filamenti addossati l'uno all'altro in modo da costituire dei cordoncini fibrillari;

2° che il detrito proveniente dalla distruzione degli elementi cellulari avvolge i filamenti i quali sembrano perciò molto più grossi. Per riconoscere l'errore, spesso è necessario adoperare i mezzi più sensibili di colorazione elettiva del reticolo linfatico.

* * *

Dati i reperti istologici da me osservati nelle milze tolte dai cadaveri d'individui morti per cirrosi epatica, e che ho potuto riscontrare identici a quelli delle milze da stasi; data infine la loro somiglianza con quelli già precedentemente descritti da vari autori nelle milze da stasi umane e sperimentali, apparisce chiaro come il solo ostacolo al deflusso del sangue nella vena porta è la causa della splenomegalia consecutiva a cirrosi epatica.

Nè il fatto che la milza si può trovare aumentata anche in casi in cui manca l'ascite può essere addotto contro questa opinione; giacchè questa mancanza viene spiegata dal fatto, del resto non raro, dello sviluppo di una circolazione venosa collaterale per la quale passa il sangue che trova un ostacolo dal lato del fegato. Ma poichè nessuna delle vie venose collaterali si anastomizza direttamente con la vena splenica, non è da meravigliarsi che la milza sia l'organo in cui meno si debbono fare sentire i vantaggi del circolo collaterale.

Nè l'altro fatto che talvolta, pur esistendo un vero ostacolo alla circolazione nel territorio della vena porta, la milza non è aumentata di volume, ha, a mio parere, alcun valore, giacchè molte sono le cause che possono impedire alla milza di ingrossarsi.

Fibromi capsulari rappresentati da vaste placche di connettivo compatto, biancastro, duro, quasi cartilagineo, che av-

volgono più o meno completamente la milza; briglie connettivali che la tengono aderente al peritoneo parietale ed agli organi prossimi; perispleniti determinanti un ispessimento della capsula, tolgono all'organo la sua elasticità e gl'impediscono di distendersi.

Io pure in due casi di cirrosi ad uno stadio piuttosto avanzato, ho potuto osservare le milze per volume e per peso molto al disotto del normale, le quali, macroscopicamente differivano dalle altre solo per il fatto che erano avvolte da una capsula molto inspessita, dura, fibrosa.

L'esame istologico di tali milze ha dato risultati differenti a seconda che si è osservato il tessuto immediatamente al disotto della capsula, oppure nel centro dell'organo. Infatti al di sotto della capsula fortemente ingrossata e costituita da larghi fasci di tessuto connettivo omogeneo, quasi jalino, senza traccia di nuclei; si nota un fitto intreccio di fibre connettivali di aspetto vagamente fibrillare, fra le quali si osservano delle cellule fusiformi che hanno tutte le apparenze dei fibroblasti (tav. IX, fig. 4 *a*). Immediatamente al disotto di questo strato, e fra i sepimenti essi pure molto grossi e che presentano una struttura istologica simile a quella della capsula (tav. IX, fig. 4 *b*), si vedono i filamenti del reticolo inspessiti, quasi addossati l'uno all'altro, che delimitano i capillari venosi non più dilatati nè rotondeggianti, ma bensì stretti, allungati, di forma ovoidale, col massimo diametro diretto parallelamente alla superficie dell'organo, nel cui lume vasale rivestito da cellule endoteliali perfettamente integre sono contenuti numerosi globuli rossi alterati e deformati per la compressione che esercitano l'uno sull'altro.

Nelle anguste maglie del reticolo, si vedono scarsissime cellule che evidentemente dimostrano aver subito processi degenerativi.

I follicoli malpighiani sono in massima parte scomparsi, e quelli che rimangono sono molto piccoli, e costituiti da una stretta zona di linfociti ammucchiati intorno all'arteriola centrale.

Procedendo verso le parti centrali dell'organo, i filamenti

del reticolo vanno grado a grado diminuendo in spessore fino a riprendere la loro sottigliezza normale.

I capillari venosi del tessuto cavernoso della milza e le grosse vene appariscono di nuovo amplie, dilatate e ripiene di globuli rossi in massima parte integri, in parte disfatti. Lo stroma linfoide della polpa splenica torna ad esser costituito da un delicato reticolo entro le cui maglie un poco deformate per la compressione esercitata su di esse dalle venule dilatate, stanno in discreta quantità emazie, granuli e zolle di pigmento ematico e cellule proprie della polpa presentanti quelle alterazioni nucleari e protoplasmatiche, già più volte precedentemente descritte (tav. IX, fig. 4 *d*).

Nei follicoli, il reticolo adenoideo apparisce sempre costituito da delicati ed esili filamenti. Numerosi linfociti con nucleo che ritiene fortemente i colori nucleari stanno fittamente addossati l'uno sull'altro, all'intorno dell'arteria centrale, mentre gli altri, situati nelle zone periferiche, presentano le alterazioni degenerative e necrotiche già descritte (tav. IX, fig. 4 *c*).

Anche in questi casi dunque, malgrado che la milza non fosse aumentata di volume, le alterazioni spleniche erano essenzialmente quelle della stasi. Nelle parti centrali dell' organo i fenomeni della stasi si erano potuti svolgere come di consueto. A causa dell'enorme ampliamento dei vasi, la corteccia splenica non potendo essa pure espandersi per l' inspessimento della capsula, era rimasta come schiacciata tra la capsula inestendibile e le parti centrali della milza tumefatte.

* * *

Le alterazioni della milza esistenti nelle cirrosi volgari del fegato sono talmente diverse da quelle della *splenomegalia con cirrosi epatica o Morbo del Banti*, che da sole bastano a differenziare nettamente le due malattie.

Infatti nella cirrosi epatica atrofica, le alterazioni della milza sono, come ho già dimostrato, localizzate principalmente nella polpa splenica, e consistono in una dilatazione delle vene e degli spazi lacunari che appaiono ripieni di sangue, mentre

i follicoli sono alterati secondariamente per una dilatazione dei loro capillari e per un dislocamento delle colonne di linfociti procedente dalla periferia verso l'arteriola centrale. Il reticolo, se l'affezione non ha durato molto a lungo, non apparisce ingrossato; e quando data da molto tempo, l'ingrossamento è minimo e preponderante nella polpa, e manca nei follicoli.

Come fase ultima, si ha la morte degli elementi cellulari con successivo disfacimento granulare.

Nel morbo del *Banti* le alterazioni sono primitivamente e principalmente localizzate nei corpuscoli malpighiani, mentre la dilatazione delle vene della polpa splenica o manca completamente o è poco pronunciata.

È invece notevole un forte ingrossamento del reticolo, localizzato all' intorno delle arterie prefollicolari e follicolari, il quale va estendendosi nell'interno dei follicoli fino a trasformarli in corpuscoli fibrosi. Questi fatti non sono davvero favorevoli all' ipotesi dello *Chauffard*, il quale sostiene che anche nella cirrosi volgare le alterazioni spleniche precedono le epatiche.

* * *

Riassumendo, l' ingrandimento della milza nelle cirrosi atrofiche volgari non si basa, come sostiene *Liebermeister*, su di un accrescimento del tessuto connettivo interstiziale, giacchè per le ricerche di *Cornil* e *Ranvier*, *Siewekìng*, *Oestreich* e mie pure, è dimostrato che questo non si trova aumentato, o lo è in minimo grado, solo in periodi molto avanzati.

E neppure si può parlare di iperplasia degli elementi cellulari della polpa come *Von Jürgensen* ha opinato ed *Oestreich* sostiene di aver costantemente osservato.

E se egli l' ha constatata, ciò è a mio parere da attribuirsi all'avere esaminati casi in maggior parte complicati da altre malattie di natura infettiva, quali la pneumonite allo stadio di epatizzazione rossa, l'eresipela localizzata ad uno degli arti inferiori, e le forme le più svariate di tubercolosi; processi morbosi questi, che di per sè valgono a determinare notevoli alterazioni della milza.

Concludendo, nelle splenomegalie consecutive a cirrosi epatica volgare, le alterazioni istologiche che si riscontrano nelle milze, sono, nei vari periodi corrispondenti, identiche a quelle delle milze da stasi e consistono:

I. In una dilatazione delle vene e del tessuto cavernoso della polpa splenica prodotta dall'accumulo di globuli rossi.

II. In una successiva dilatazione dei capillari dei follicoli del *Malpighi*, procedente dalla periferia verso l'arteria centrale, con fuoriuscita di elementi sanguigni, e dissociazione degli elementi cellulari costituenti i follicoli.

III. In un ispessimento della capsula, delle trabecole e delle guaine avventizie delle vene.

IV. In una distruzione dei globuli rossi maggiore che al normale.

V. In una serie di processi degenerativi che colpiscono gli elementi cellulari propri della polpa splenica e che terminano col disfacimento granulare dei medesimi.

## Bibliografia.

1. Bright, Reports of medical cases. (London, 1827, pag. 89 e s.).
2. Andral, Précis d'Anatomie Pathologique, vol. 2°. (Paris, 1829).
3. Rokitansky, Handbuch der path. Anatomie. (Wien, 1842).
4. Orth, Lehrbuch der sp. path. Anatomie, 1883.
5. Strümpell, Patologia speciale e Terapia (1894, vol. IV).
6. Birch-Hirschfeld, Lehrbuch der path. Anatomie (1883).
7. Billroth, Zur normalen und pathologischen Anatomie der menschlichen Milz. (Virchow's Archiv, 1862, Bd. 23, pag. 476 e s.).
8. Nikolaides, Ueber die histologischen Veränderung der Stauung Milz. (Virchow's Archiv, 1880, pag. 400 e s.).
9. Sokoloff, Ueber die venöse Hyperämie der Milz. (Virchow's Archiv, 1888, Bd. 112).
10. Banti, La splenomegalia con cirrosi epatica. (Lo Sperimentale, Parte originale, 1894, pag. 423 e s.).
11. Von Jürgensen, Lehrbuch der speciellen Pathologie und Therapie.
12. Liebermeister, Vorlesungen über specielle Pathologie und Therapie, Bd. 5, S. 214.
13. Senator, Ueber atrophische und hypertrophische Lebercirrhosen. (Berliner Klin. Wochenschr., 1893, No. 51).

14. ZIEGLER, Trattato di Anatomia patologica speciale, 3ª ediz. italiana, pag. 90 e s.
15. WEBER, The cause of Splenic enlargement in cases of hepatic cirrhosis. (Edimbourg Medical Journal, 1897, December).
16. CHAUFFARD, Des hepatites d'origine splénique. (Le Semaine Médicale, 1899, n. 23, pag. 177 e s.).
17. CORNIL et RANVIER, Manuel d'Histologie Pathologique, Vol. II. Parigi, 1884.
18. SIEVEKING, Zur pathologischen Anatomie der atrophischen Lebercirrhose. (Centralblatt für Allgemeine Pathologie etc., 1894, No. 24-25).
19. R. OESTREICH, Die Milzschwellung bei Lebercirrhose. (Virchow's Archiv für Pat. Anat., Bd. 142, 1895).
20. MARTINOTTI e BARBACCI, La tumefazione acuta della milza nelle malattie infettive. (Morgagni, anno XXXII, sett.-ott. 1890).
21. FOÀ e CARBONE, Giornale dell'Accademia di medicina. (Torino, 36, 1888, n. 1, pag. 19).

## Spiegazione delle figure.

Sezioni di milze indurite nel liquido del Foà e colorate con Emallume del Meyer e successivamente col metodo del Van Gieson. Microscopio Kòritska.

Per la figura 1. Oculare Huyghens 4. Obiettivo 4. Tubo a 160 $^{m}/_{m}$. Ingrandimento. Diametri 150.

Per le figure 2, 3, 4, 5. Oculare Huyghens 4. Obiettivo 9, 9*. Tubo a 160 $^{m}/_{m}$. Ingrandimento. Diametri 900.

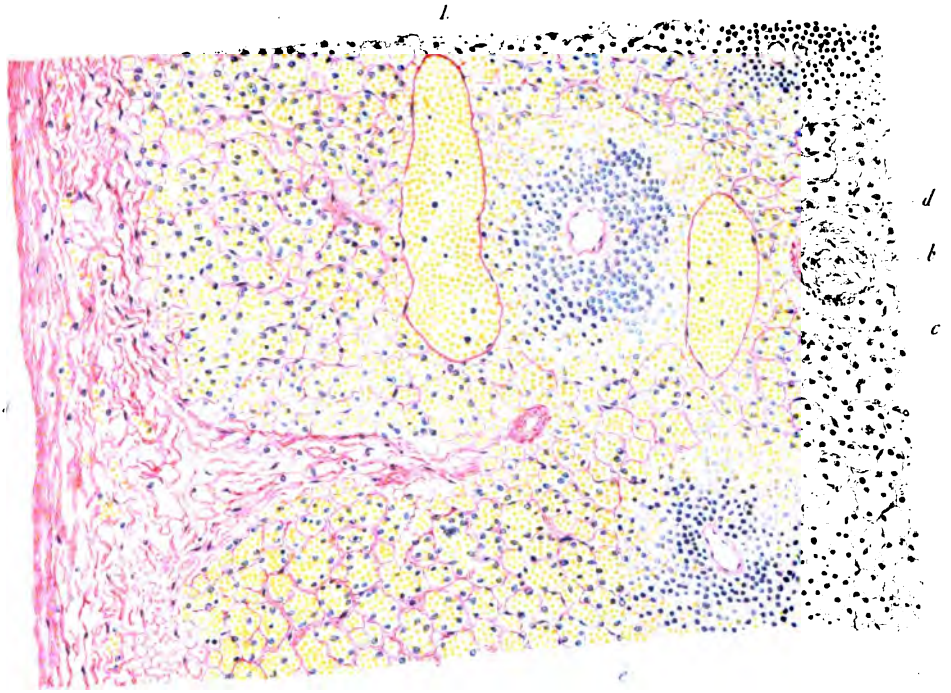
TAVOLA VIII. — *Figura 1.* — Sezione di milza nella cirrosi epatica iniziale (I° gruppo):

*a.* Capsula fibrosa;
*b.* Sezione trasversa di un setto capsulare;
*c.* Sezione di una vena dilatata e ripiena di globuli rossi;
*d.* Follicolo Malpighiano con capillari dilatati, e linfociti dissociati alla periferia da elementi sanguigni;
*e.* Polpa splenica i cui capillari venosi e le cui maglie sono distese da numerose emazie.

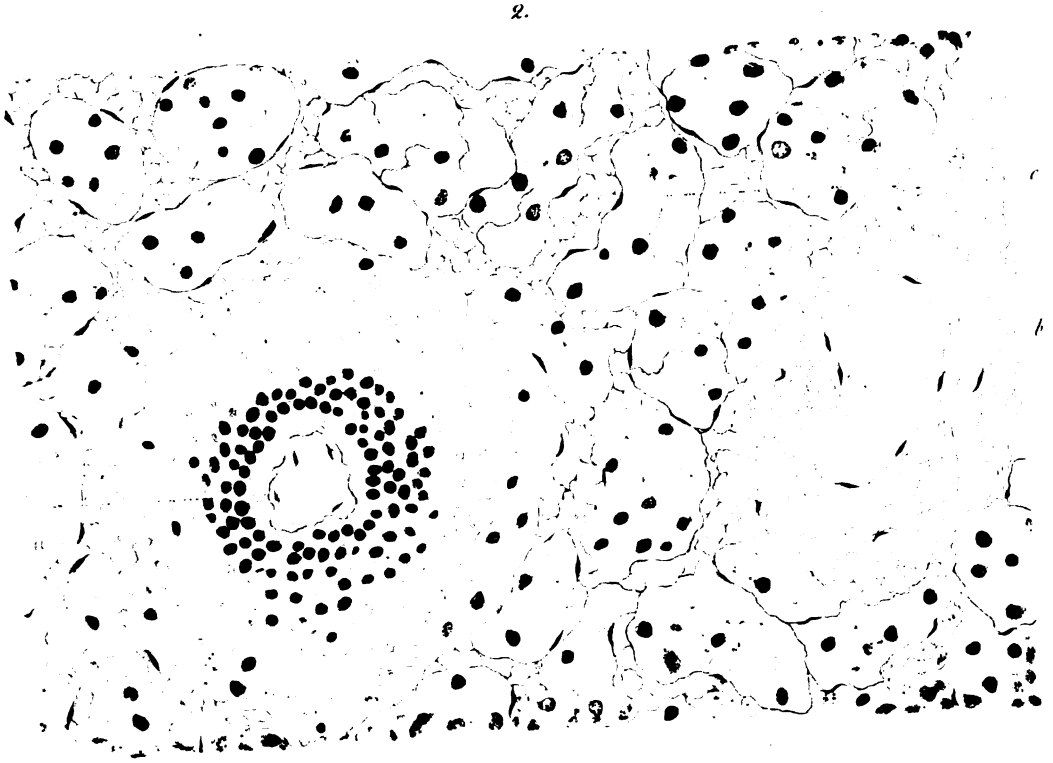
TAVOLA VIII. — *Figura 2.* — Sezione di milza appartenente al II° gruppo:

*a.* Follicolo del Malpighi con linfociti, intorno all'arteriola corpuscolare addossati l'uno sull'altro, e nelle zone periferiche dissociati dai globuli rossi fuoriusciti dai capillari;

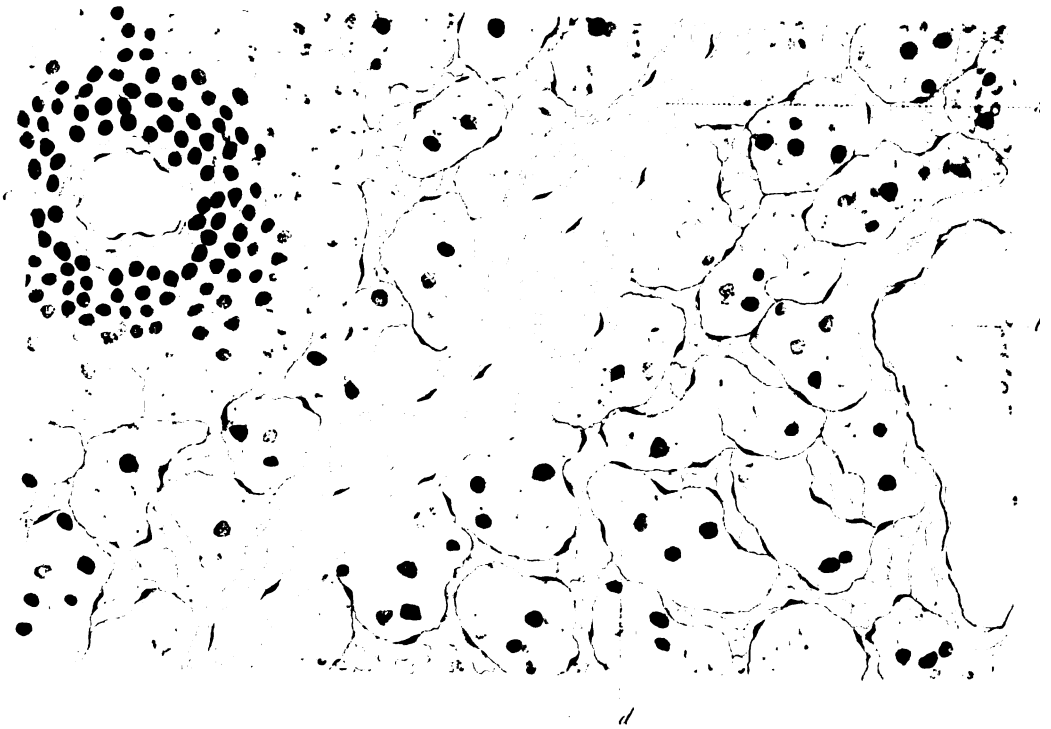
1.



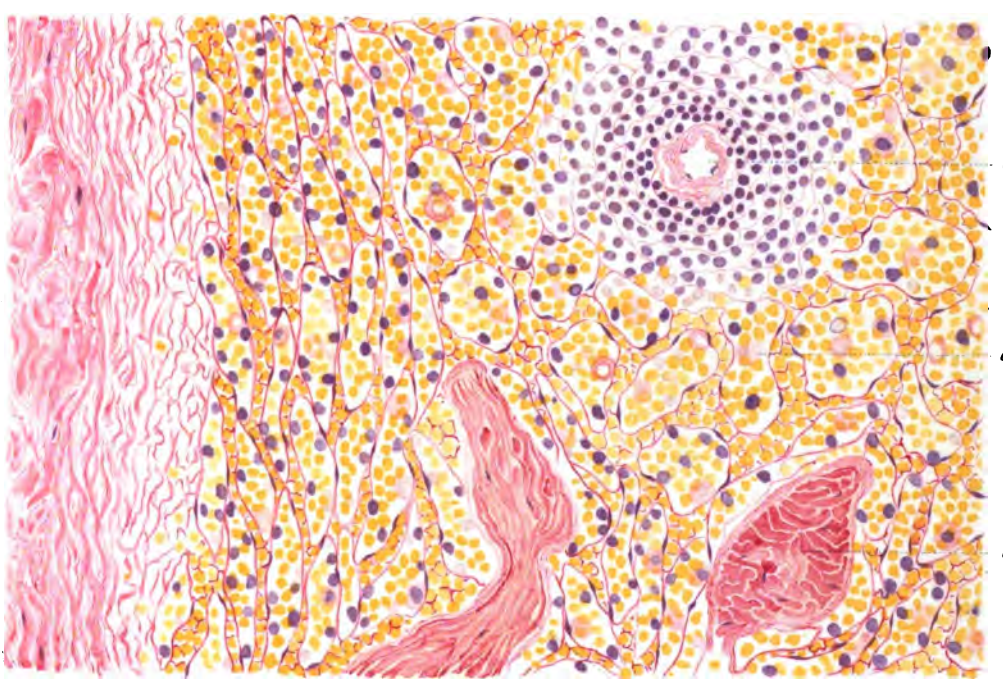

2.



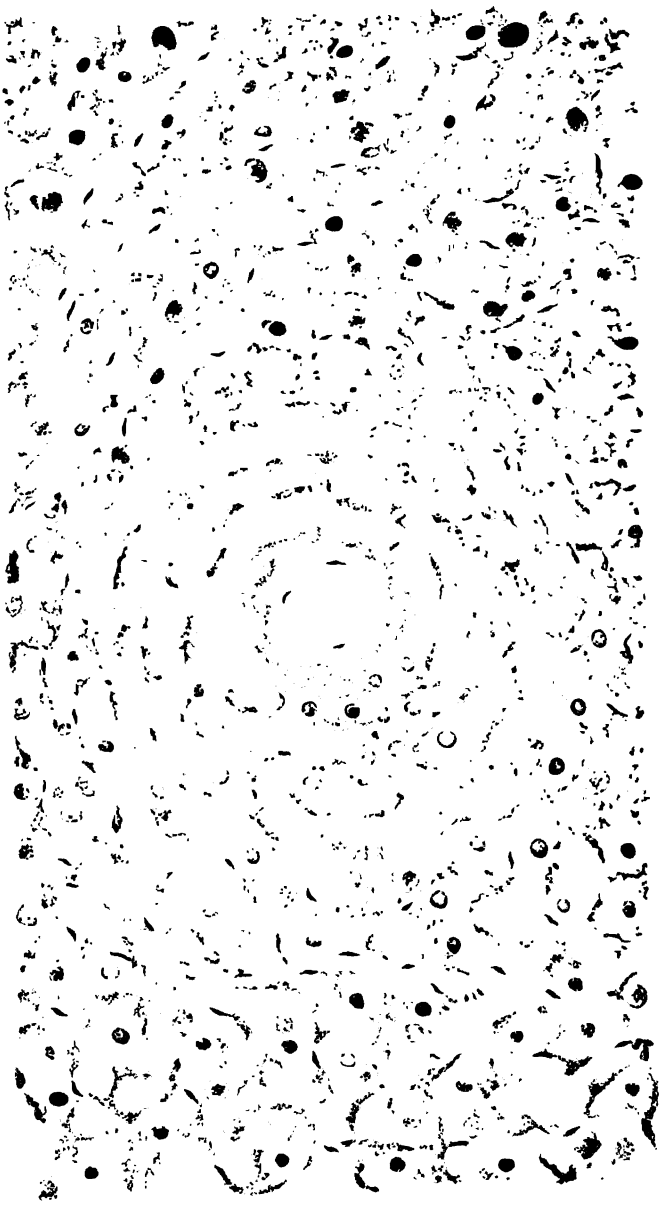
3.




4.



5.




F. Azzurrini - *La milza nelle cirrosi epatiche ecc.*

G. Guidi dis.

*b.* Trabecola connettivale attraversata da una grossa vena;

*c.* Polpa splenica. I capillari venosi sono distesi dal sangue; i cordoni della polpa sono compressi; i globuli rossi appariscono in massima parte alterati; e gli elementi cellulari presentano vari processi degenerativi.

TAVOLA IX. — *Figura 3.* — Sezione di milza tumefatta per trombosi completa della vena splenica. In essa si osservano le medesime alterazioni che nella precedente figura.

*a.* Trabecola capsulare, di aspetto edematoso, con fasci connettivali divaricati;

*b.* Grossa vena;

*c.* Corpuscolo del Malpighi;

*d.* Polpa splenica.

TAVOLA IX. — *Figura 4.* — Sezione di milza piccola, per perisplenite.

*a.* Porzione di capsula fibrosa;

*b.* Setti capsulari in sezione trasversa e longitudinali. Capsula e setti sono ingrossati e costituiti da grossi fasci di connettivo jalino;

*c.* Follicolo Malpighiano presentante le medesime alterazioni che nelle figure 2-3;

*d.* Polpa splenica. Immediatamente al disotto della capsula, i filamenti del reticolo sono inspessiti, i capillari venosi, stretti, allungati, i cordoni della polpa schiacciati fra questi. Nei punti distanti da essa si torna ad avere di nuovo l'aspetto che nelle figure 2-3.

TAVOLA X. — *Figura 5.* — Sezione di milza appartenente al III° gruppo.

*a.* Arteria follicolare contornata da scarsi linfociti.

*b.* Polpa splenica. I globuli rossi, le cellule proprie della polpa ed i linfociti del follicolo sono in massima parte distrutti ed i loro residui costituiscono il detrito granulare che avvolge i filamenti del reticolo e riempie le maglie della polpa splenica.

Istituto di Anatomia Patologica di Firenze, diretto dal Prof. G. Banti.

DOTT. L. PICCHI

I° Aiuto.

# CONTRIBUTO ALLA CONOSCENZA DELLA DERMATOMIOSITE.

(Con 2 tavole in fototipia e 3 in cromolitografia).

Nel 1887, quasi contemporaneamente, furono descritti da *Wagner*, *Hepp* ed *Unverricht* i primi casi di *polimiosite:* da quel momento ad oggi i casi clinici illustrati e descritti come appartenenti a questa forma di miopatia primitiva sono appena 50. Un numero relativamente così ristretto in un tempo non breve (sedici anni) depone certamente per la rarità della malattia, tanto più, che dalle descrizioni cliniche e dagli esami istologici risulta chiaramente, che alcuni casi descritti per polimiosite appartengono invece alle comuni forme di pioemia con localizzazioni straordinariamente prevalenti nei muscoli.

Le nozioni che noi abbiamo su questa entità morbosa sono alquanto incerte e, specialmente per quello che si riferisce all'etiologia, assai incomplete.

La polimiosite è una forma, clinicamente ben distinta, di miopatia primitiva, che si accompagna quasi costantemente a lesioni cutanee (edemi, eritemi): questa partecipazione, quasi costante, della pelle al processo morboso, ha fatto sì che alcuni abbiano considerato sinonimo di polimiosite il nome di dermatomiosite. Questa opinione non è giusta, perchè al momento attuale noi dobbiamo considerare la dermatomiosite come una forma di polimiosite, dando il nome di polimiosite ai casi, abbastanza rari, di questa entità morbosa nei quali manca assolutamente ogni compartecipazione della cute al processo patologico.

Dei cinquanta casi giunti a mia conoscenza, venti hanno dato luogo a ricerche istologiche sui muscoli, sia del cadavere, sia asportati in piccoli frammenti dal vivente. Pochi però hanno potuto essere studiati completamente. Essendomi stato possibile eseguire numerose ricerche *post mortem* su di un caso tipico, credo abbia un certo valore renderne noti i risultati.

* * *

Devo alla squisita cortesia del dott. *Pieraccini* tutte le notizie anamnestiche, l'esame obiettivo e l'andamento della malattia durante il tempo che il malato passò nelle sale dell'Arcispedale di Santa Maria Nuova; mi è grato perciò porgere qui al collega i miei ringraziamenti.

Si tratta di un contadino, Stiaccini A. di 18 anni di S. Casciano Val di Pesa: godendo sempre di salute ottima ha sempre condotta una vita regolare di lavoro, senza mai fatiche eccessive o in condizioni anti-igieniche. Non ebbe sifilide, non ha niente di ereditario.

Il 3-4 novembre 1899 senza causa apprezzabile cominciò a soffrire di dolori vaghi agli arti inferiori, alla regione lombare e lievi anche agli arti superiori.

Contemporaneamente leggero movimento febbrile.

I dolori, localizzati in corrispondenza dei ventri muscolari, lasciarono fino dal primo momento completamente libere le articolazioni. Dopo 20 giorni di questo stato, il 24 novembre, fu, con diagnosi di *reumatismo muscolare*, inviato all'Ospedale di S. M. Nuova.

Al momento dell'accettazione nel turno del dott. Bertini, accennando un senso generale di indolenzimento, accusava dolori più marcati agli arti inferiori, specialmente alle coscie, e in corrispondenza di questi dolori presentava un esantema scarlattiniforme che, specialmente a destra, risaliva fino ai fianchi; aveva anche edemi manifesti alle coscie e alle gambe, liberi completamente da edemi i piedi e tutte le articolazioni.

In questo momento presentava una temperatura oscillante da 37°,4 la mattina, a 38° la sera, però nel seguito del mese di novembre presentò anche apiressia completa al mattino senza che mai, all'insorgere della febbre, che la sera raggiungeva anche 38°, avvertisse brividi di freddo. Nei primi 10 giorni di degenza nell'Ospedale gli edemi si mantennero notevoli ma invariati, l'esantema si estese in alto e specialmente alle regioni glutee e lombari, i dolori, spontanei da per tutto, si facevano vivissimi ai movimenti; non si notava alterazione alcuna dei visceri tora-

cici, milza poco aumentata, ventre regolare, orine scarse ma perfettamente sane.

Col procedere del tempo restando invariate, relativamente agli edemi, all'esantema e al dolore, le condizioni degli arti inferiori, peggiorarono le condizioni del tronco, del collo e degli arti superiori dove edemi e dolori andarono aumentando, lasciando però sempre libere le articolazioni.

La temperatura, sotto il 37° la mattina, raggiungeva la sera un massimo oscillante fra il 37°,5 e il 38°,5.

Il dì 11 dicembre fu raccolto il seguente *esame obiettivo.*

Scheletro regolare: pannicolo adiposo ben sviluppato.

Edemi lievissimi agli arti inferiori in corrispondenza delle masse muscolari, liberi assolutamente i piedi e le articolazioni, lievi tracce di desquamazione sulla cute delle coscie, movimenti attivi e passivi possibili ma dolenti, pressione e palpazione delle masse muscolari dolorosa.

Senso muscolare incerto, riflesso rotuleo normale.

Indolenti alla pressione i nervi sciatico, crurale, sciatico popliteo esterno nei loro ordinari punti di esame.

Agli arti superiori: edema lieve alle spalle, più marcato ai bracci e ai due terzi superiori degli avambracci, liberi completamente i polsi e le mani.

Dolorabilità delle masse muscolari, motilità delle articolazioni, integrità dei cordoni nervosi come negli arti inferiori.

La pelle, anche nei punti di maggiore tensione per edema, è di per sè indolente.

Le spalle appariscono sub-tumide, poco o punto dolenti i deltoidi e i muscoli della cintura scapolo-omerale, poco i pettorali. Al dorso gli edemi sono più intensi specialmente nella doccia vertebrale e in corrispondenza delle regioni lombari.

Gli edemi appariscono intensi e duri al collo che è uniformemente rotondeggiante, notevolmente spiccato l'edema sugli sternocleidomastoidei. La faccia presenta la fisonomia sofferente, ma tutti i muscoli mimici, i muscoli propri dei globi oculari, la lingua si presentano integri.

La deglutizione (da 3 giorni) un poco difficile, la masticazione dolorosa. Sensibilità generale termica e tattile conservata su tutto il corpo: sensi specifici normali; sensorio libero per quanto apatico.

Non fu fatto l'esame elettrico.

Niente ai polmoni. Respirazione a tipo misto, 22 respirazioni al minuto; cuore nei confini normali, con toni netti, ma affrettati e regolari: il polso alla radiale è debole, ma regolare, batte 98 volte a minuto. Fegato normale; milza forse di poco aumentata di volume. Sistema linfatico normale: nessuno ingorgo glandolare. Depresse le forze generali. Le orine, ripetutamente esaminate, non hanno presentato traccia di albumina: così l'esame del sedimento non ha mostrato mai elementi figurati renali.

Da due giorni le orine si sono fatte più scarse. Oggi cc. 500 nelle 24 ore; acide, giallo-rossastre, con p. s. 1032; zucchero, pigmenti biliari, albumina, urobilina assenti.

L'alvo ha da qualche giorno tendenza alla stitichezza. Sfinteri normali.

Il 13 dicembre si nota maggior depressione di forze ed evidente disturbo nei movimenti respiratori che raggiungono il numero di 28 per minuto, si fanno irregolari per ampiezza, ora più ora meno profondi, ora a tipo prevalentemente addominale, ora invece misto o toracico superiore, qualche volta a riprese: non si osserva mai il tipo *Cheine-Stockes*, nè mai esiste cianosi.

La febbre raggiunge un massimo di 38°,7 senza apiressia mattutina: il polso si accelera, raggiunge 130 pulsazioni al minuto.

Il 14 verso mezzodì si ha un breve periodo di cianosi e il malato quasi improvvisamente cessa di vivere.

* * *

Lo Stiaccini venne al tavolo anatomico con la diagnosi di *dermatomiosite acuta.*

I sintomi cardinali sui quali era stata basata furono i seguenti: l'edema duro legnoso a distribuzione irregolare, rispettante le regioni articolari, le mani e i piedi, che assolutamente non poteva esser messo in rapporto con lesioni cardiache o renali: il dolore localizzato e localizzabile con la palpazione sui fasci muscolari: la durezza dei medesimi senza alcuna fluttuazione che potesse accennare a probabili ascessi: la indolenza assoluta dei nervi in qualsiasi punto fosse possibile saggiarli senza comprimere fasci muscolari: l'integrità o quasi della sensibilità: in linea secondaria, la febbre, l'aumento della milza, l'esantema.

Fu di sussidio anche il decorso e l'esito finale dovuto a compartecipazione dei muscoli respiratori e della deglutizione.

* * *

La necroscopia eseguita 22 ore dopo la morte dette il seguente risultato:

Costituzione scheletrica regolare, nutrizione buona. Rigidità cadaverica conservata, nessuna traccia di putrefazione. All'esame esterno si notano: edemi intensi agli arti superiori, localizzati in corrispondenza dei fasci muscolari; le mani e le articolazioni libere. Edema rilevante ai lati del collo, scarso agli arti inferiori.

La pelle è pallida, lascia infossare le dita nelle zone edematose con una certa difficoltà e ne conserva l'impronta: di nessun'altra alterazione si osserva traccia sui tegumenti.

Posizione dei visceri addominali normale, normale pure per aspetto e quantità il liquido raccolto nelle sierose.

Aderenze pleuriche antiche e resistenti, più marcate a sinistra e specialmente in corrispondenza della cupola del diaframma e della pleura interlobare. (Questo è in contradizione con l'anamnesi).

Ipostasi marcata in ambo i polmoni: a sinistra, oltre i fatti di ipostasi, si notano aumento di volume e peso nella parte esterna del lobo inferiore; in questa zona noduli sparsi, impermeabili all'aria, rosso grigiastri, poco rilevati sulle superfici di taglio.

Cuore di volume normale. Le valvule e gli orifici sono integri, l'aorta è normale per calibro.

Miocardio di spessore normale, discretamente molle, di lucentezza anormale, di colorito bruno, mostra le superfici di taglio d'aspetto untuoso senza però lasciar traccia di untuosità sulla lama del tagliente; le coronarie sono normali.

Fegato, aumentato di volume, ricco di sangue, è assai molle e lacerabile; sulle superfici di taglio apparisce di aspetto noce moscata incipiente.

Milza, aumentata di volume e peso, si presenta scura, con la polpa assai molle e difluente.

Reni, modicamente aumentati di volume, mostrano lievi tracce d'iperemia.

Normali macroscopicamente le capsule surrenali e il pancreas.

Nell'intestino si trova soltanto una leggera tumefazione dei follicoli solitari nell'ultima porzione dell'ileo (solo un 15-20 centimetri al disopra della valvola ileo-cecale).

Incisa la cute in corrispondenza delle regioni edematose si trova il tessuto sottocutaneo estremamente pallido, disteso da sierosità abbondante, che sgorga facilmente anche senza nessuna compressione e permette di raccogliere rapidamente una certa quantità di liquido limpido di colorito appena tendente al giallo paglierino [1].

Tutti senza eccezione i muscoli degli arti superiori sono fortemente edematosi I fasci muscolari tesi e lucenti, il colorito della fibra pallido-grigiastro. Sezionando per qualsiasi verso i muscoli si trova che, anche nell'interno, sono di colorito pallido irregolarmente giallastro, sparsi da macchie più o meno fitte, più o meno pallide con varie scalature di colore grigio-giallastro, e da rare fini punteggiature rosse.

L'edema e le alterazioni di colore sono visibili, in un grado più o meno intenso, in tutti i muscoli degli arti inferiori e del tronco, un poco anche nei muscoli del collo, meno negli intercostali che appariscono quasi integri e nel diaframma dove si osserva solo edema discreto.

Lungo i nervi non si osserva alcuna alterazione macroscopica, eccettuata qualche piccola punteggiatura rossa nella guaina connettivale di qualcuno dei fasci più grossi.

---

[1] Questo liquido è risultato ricchissimo di albumina.

Niente nelle articolazioni.

Niente di macroscopicamente apprezzabile nel sistema nervoso centrale, se se ne eccettua un leggero edema.

* * *

Ricerche batteriologiche furono subito eseguite sul sangue del cuore, sul succo della milza e del polmone, sul liquido dell' edema cutaneo raccolto nei punti di massima tumefazione e sul liquido dell' edema muscolare.

Con queste varie sostanze feci disseminazioni in agar semplice, agar glicerinato e brodo e le coltivai a 37° sia in contatto dell' ossigeno che anaerobicamente: col liquido sieroso, estratto dall' edema nei punti di massima tumefazione sia muscolare che cutanea, praticai anche iniezioni in animali e cioè, a un coniglio sotto cute; a varî topolini sotto cute e nel peritoneo.

I risultati batteriologici delle culture furono i seguenti: presenza del diplococco lanceolato e capsulato, con qualche rara colonia di staffilococco aureo nel polmone, puro nella milza; sterili assolutamente il sangue del cuore e i succhi muscolare e cutaneo.

Senza effetto alcuno rimasero anche le inoculazioni praticate negli animali.

Concordi con questi risultati gli esami diretti con colorazioni batteriche dei succhi fissati su vetrini.

Per l' esame istologico, oltre a frammenti di tutti i visceri, presi pezzetti della maggior parte dei muscoli del corpo e specialmente dove le alterazioni macroscopiche erano più marcate o più lievi, pezzetti della cute dove era edematosa o dove lo era stata, pezzetti dei nervi e dei vasi arteriosi sottili dei muscoli.

Per fissare questi pezzi impiegai più che altro il liquido del *Flemming* miscela forte, usai anche alcool, sublimato saturo, bicromato e, per conservare meglio l' edema della cute e dei muscoli, la miscela citro-picrica dell' *Esbach*.

I metodi che ho in seguito impiegati per colorare le sezioni ottenute da questi frammenti, previa inclusione in paraf-

fina o celloidina, sono stati quelli ordinarî per le colorazioni nucleari (carminio alluminico, emallume del *Meyer*, safranina, il metodo del *Weigert* per la fibrina e i metodi usuali per la ricerca dei microrganismi nelle sezioni).

Ho praticata questa ricerca dei microrganismi oltrechè sulle sezioni anche su vetrini fatti a fresco col succo dei vari visceri e muscoli e col sangue del cuore; tranne che per il polmone e per la milza è stata completamente negativa.

Ecco il risultato dell' esame istologico:

*Polmoni.* — Leggera bronchite purulenta con distensione discreta dei vasi sanguigni. I setti inter-alveolari, per lo più assai distesi per ingorgo dei capillari sanguigni, che in qualche setto sporgono tanto nel lume alveolare da diminuirlo notevolmente; alcuni pochi setti, che non mostrano affatto iniezione vasale, presentano una leggera ma evidente infiltrazione parvi-cellulare.

Gli alveoli mostrano nel loro interno un essudato di composizione variabile, in alcuni formato quasi esclusivamente da sangue misto a poche cellule delle pareti staccate e rigonfie; in altri da polinucleati con pochissimi globuli rossi e cellule epiteliali, qua e là scarsi reticoli di fibrina; in tutti microrganismi, specialmente diplococchi, liberi e fagocitati.

Nessuna visibile alterazione nelle pareti dei vasi arteriosi e venosi.

*Reni.* — Scarse e leggere alterazioni. In qualche glomerulo tracce di sostanza granulosa precipitata nella capsula del *Bowmann* (albumina?); in qualche raro tubulo contorto rigonfiamento torbido e necrosi ialina di poche cellule epiteliali delle pareti. I vasi sanguigni della *cortex corticis* iniettati.

*Milza.* — I follicoli appariscono normali tanto per numero che per volume, nessuna alterazione nell'arteria nè nella disposizione degli elementi propri del follicolo. Nella polpa aumento di sangue nelle vene e fuori di esse, i globuli sanguigni sono ben conservati, le cellule globulifere non sono molto abbondanti.

Nelle zone immediatamente sotto-capsulari della polpa esistono piccole emorragie.

*Fegato.* — Distensione dei capillari sanguigni che prendono origine dalle vene centro-lobulari; questa distensione, che in qualche lobulo è assai marcata, isola fra loro e sforma le trabecole di cellule epatiche. Molte cellule si mostrano col protoplasma granuloso e in alcune, specialmente nelle parti più centrali dei lobuli, esistono grosse goccie di grasso. I nuclei sono in tutte ben conservati e colorabili.

*Intestino* (1). — Evidente tumefazione dei follicoli linfatici; la mucosa apparisce sana in tutti i suoi punti, sia sopra ai follicoli tumefatti che tra follicolo e follicolo. La sottomucosa mostra qua e là delle zone dove gli elementi cellulari e le fibre connettivali sono fra loro più distanti del solito formando un reticolo a maglie larghe, alcune delle quali appariscono ripiene da sostanza amorfa. Nello strato muscolare trasverso notasi una leggera dissociazione delle varie fibro-cellule muscolari fra loro.

*Cuore.* — La fibrocellula si presenta nei limiti normali di volume; la striatura trasversa è ben conservata e in qualche punto quasi esagerata, normale quella longitudinale e le saldature fra cellula e cellula.

I nuclei, normali per volume, hanno la sostanza cromatica disposta o a reticolo irregolare o a granuli uniformemente disseminati.

In alcune cellule sono visibili vacuoli, specialmente nella parte assile ai due poli del nucleo. cioè in corrispondenza del fuso di protoplasma che lo accompagna; in altre nel luogo dei vacuoli esistono numerosi granuli colorati in bruno dall'acido osmico; in quasi tutte granulini minimi di grasso (neri per la reazione dell'acido osmico) sparsi nell'intera cellula.

Gli spazi intercellulari sono o normali o di poco aumentati; aumentati gli spazi peri-vasali nei quali esiste evidentemente edema, essendo le fibre ed i nuclei del connettivo molto distanti e separati fra loro da sostanza incolora d'aspetto omogeneo.

Nelle pareti dei vasi, specialmente in quelli di discreto

(1) È stato fissato soltanto in alcool.

calibro, evidente la presenza di goccioline di grasso irregolarmente diffuse nell'interno delle fibro-cellule muscolari, più abbondanti in alcuni punti, meno in altri; alcune di queste cellule muscolari sono rigonfie, altre senza alterazione apprezzabile.

Nei leucociti che si trovano nell'interno dei vasi sanguigni insieme ai globuli rossi, si riscontrano spesso dei granuli di sostanza colorata in nero dall'acido osmico. Nei preparati fissati con l'alcool o col sublimato questi granuli non appariscono affatto.

I nervi del cuore, almeno nei punti dove sono cadute le sezioni, sono resultati normali.

Il *sangue* steso sui vetrini, fissato alla lastra di rame e colorato coi metodi speciali per l'ematologia, ha chiaramente dimostrato aumento dei polinucleati neutrofili, certamente nel loro rapporto percentuale con le altre forme (84,3 per 100), molto probabilmente anche in cifra assoluta ([1]), e scomparsa dei polinucleati eosinofili.

*Sistema nervoso.*—L'esame praticato su sezioni trasverse e longitudinali dei frammenti di sciatico, tibiale, mediano, radiale e frenico non mi ha svelata alterazione alcuna nei medesimi.

Ugual risultato mi hanno dato le ricerche praticate nel cervello, bulbo, midollo spinale, gangli intervertebrali, fissati in liquido del *Müller*.

*Vasi.* — Tranne le alterazioni che ho trovate nei rami piccoli muscolari e che descriverò parlando delle alterazioni dei muscoli stessi, non ho riscontrato niente altro di notevole in quei rami arteriosi da me esaminati.

*Muscoli.*—Naturalmente le alterazioni che più hanno importanza nel caso che ci occupa sono quelle che colpiscono i muscoli.

Alla necroscopia mi fu dato notare come, macroscopicamente, tutti quasi i muscoli del cadavere, almeno quelli che caddero sotto i nostri occhi, fossero alterati. Microscopicamente

---

([1]) Non essendo stato fatto l'esame del sangue a fresco ma solo sui vetrini seccati non è possibile una sicura appreziazione di questo dato.

devo rilevare come queste alterazioni, presenti in tutti i frammenti dai quali ho praticate sezioni, siano di aspetto e intensità molto variabili e senza alcun rapporto di gravità colla maggiore durata della malattia nei vari muscoli: tanto i muscoli della coscia, primi colpiti, quanto i muscoli del collo, ultimi ammalati, presentano zone di fibre quasi sane, alternate con zone fortemente ammalate, e questo alternarsi di parti sane con parti malate è irregolarissimo, tanto che ho potuto colpire in un campo microscopico (tav. XII, fig. 4) una fibra distrutta per degenerazione grassa in un solo punto, mentre i due estremi si mostrano integri.

Attesa dunque questa tanto irregolare distribuzione delle alterazioni muscolari, non mi è possibile descrivere il reperto microscopico muscolo per muscolo, ma dovrò limitarmi a darne una descrizione generica senza accennare, salvo casi speciali, i muscoli dove determinate forme di lesione sono presenti.

Cominciando dal connettivo, devo notare come l'edema sia intenso ed esteso e colpisca di preferenza i setti connettivali più grossi; in questi setti è evidente l'accumulo di sostanza amorfa, lievissimamente granulare, che dissocia a larghe maglie i fasci connettivali; questa sostanza, che non si colora con l'acido osmico, che non dà affatto la reazione della mucina e non prende che molto debolmente il colore di fondo dell'eosina quando si colori la sezione piuttosto intensamente, è certamente liquido di edema: oltre questo edema, nel connettivo, specialmente all'intorno dei grossi vasi venosi, è visibile qua e là una infiltrazione parvicellulare sempre in grado molto limitato, non costante e che non assume mai nemmeno lontanamente l'aspetto di un ascesso.

In qualche sezione colorata col metodo del *Weigert* per la fibrina (evidente nel sartorio sinistro) si trova nel connettivo edematoso un sottile e scarso reticolo di filamenti di fibrina; in qualche punto delle stesse sezioni si trovano, sempre nel connettivo perivasale, dei granuli irregolari che hanno mantenuto il colore della fibrina [forse fibrina precipitata sotto la forma granulare?].

I vasi sanguigni sono, principalmente i capillari, ingor-

gati, e questo nei muscoli poco alterati o nelle regioni meno alterate di un muscolo molto malato: questo fatto è evidente nel diaframma, dove quasi ogni fibra muscolare è accompagnata da un capillare sanguigno completamente ripieno di globuli rossi. Nei vasi, sia arteriosi che venosi, ma più nei primi, ho riscontrato una quasi costante lieve degenerazione grassa delle fibro-cellule muscolari delle pareti (Tav. XV, fig. 12), rappresentata da fini gocce nere nell'interno della cellula, più nella vicinanza del nucleo, e da vacuoli, quando le sezioni siano state trattate con solventi del grasso osmiato. Qua e là in alcune vene sembra vedere un rigonfiamento dell'endotelio.

Queste alterazioni degenerative delle pareti vasali sono visibili con maggiore o minor estensione, maggiore o minor costanza, in tutti i muscoli esaminati.

In quei frammenti di muscolo nei quali nelle sezioni appariscono nervi, non ho potuto vedere in essi alterazione di sorta.

Accennato così al reperto istologico dello stroma di sostegno del muscolo, passiamo alle alterazioni della parte veramente contrattile, della fibra muscolare.

Le alterazioni che colpiscono la fibra sono, nel caso da me studiato, tutte di natura degenerativa.

Alcune fibre si presentano come cilindri uniformi, di spessore pochissimo superiore a quello delle fibre sane, col colorito speciale della sostanza musculare, senza traccia assolutamente di striatura nè longitudinale nè trasversale; questi cilindri si colorano uniformemente con l'eosina, non dànno la reazione della sostanza amiloide, ma con l'iodio si colorano quasi nella stessa tonalità delle fibre sane, hanno i nuclei normali per colorabilità e posizione; sono evidentemente fibre nello stadio iniziale della degenerazione cerea. Altre fibre in luogo di presentarsi come cilindri omogenei sono frammentate a zolle e blocchi del più vario volume; da zolle della lunghezza di due o tre volte il diametro della fibra si giunge a zolle grosse quanto un nucleo e anche meno e infine ad un detrito granulare (Tav. XI, fig. 1 e Tav. XIV, fig. 9).

Non ho mai trovate fibre cadute in questa forma di de-

generazione che rappresentassero l'aspetto classico della degenerazione cerea di *Zenker*, perchè mentre nelle descrizioni date da questo autore il sarcolemma, distendendosi in corrispondenza delle zolle, si ritrae fra zolla e zolla dando alla fibra l'aspetto di una coroncina, nei muscoli del caso mio non avviene questo cambiamento di calibro del sarcolemma.

In alcune fibre non si nota altra alterazione che una disposizione irregolare delle strie trasverse che sono ondulate come se i dischi di sostanza di differente rifrangenza non fossero bene uniti fra loro.

In altri muscoli, o in punti differenti degli stessi muscoli, le fibre appariscono rigonfie, hanno la striatura longitudinale esagerata, quella trasversale rappresentata da punteggiature parallele più che da strie, punteggiature che poi spariscono lasciando visibile la striatura longitudinale sola.

In alcune fibre le singole fibrille, in altre invece i fasci primitivi sono nettamente separati fra loro. Queste alterazioni sono benissimo visibili nelle sezioni longitudinali ma forse meglio nelle trasverse. In queste sezioni noi abbiamo anche chiarissima la dimostrazione del presentarsi irregolare delle singole alterazioni delle fibre; infatti (Tav. XIV, fig. 10) noi vediamo che alcune fibre sono omogenee, di calibro normale o poco aumentato, altre divise da pochi spacchi irregolari in zone di ampiezza e forma varia, omogenee o finamente granulose; altre fibre presentano i fasci primitivi nettamente isolati gli uni dagli altri, ma contigui, con i campi del *Cohnheim* ben delineati; altre invece rari e distanti, separati fra loro da una sostanza omogenea o finamente granulare, di colorito molto più pallido dei fasci stessi. Quando nelle fibre è avvenuta la divisione in fibrille, noi vediamo o una punteggiatura minuta ed uniforme che occupa, salvo qualche raro vacuolo, tutta la fibra, oppure poche sezioni delle fibrille isolate o raggruppate irregolarmente nell'interno del sarcolemma insieme ad una sostanza omogenea o granulare come quando è avvenuta la divisione in fasci primitivi.

Nelle sezioni longitudinali alcune fibre si presentano sotto forma di fasci di sottilissime e delicate fibrille, che in qualche

caso sono assai lunghe e regolari (Tav. XII, fig. 6), in altri invece miste a granuli e zolle o terminanti rapidamente in ammassi di sostanza amorfa. In qualche altra fibra è visibilissima, insieme alla divisione nei fasci primitivi, una esagerazione della striatura trasversa (Tav. XI, fig. 2 e Tav. XIII, fig. 7), in altre una frammentazione quasi regolare dei fasci primitivi o delle fibrille, che conservano abbastanza, per quanto suddivise, il loro aspetto (Tav. XIII, fig. 7).

Ben visibile in quasi tutte le fibre alterate e chiaramente dimostrabile in alcune (Tav. XI, fig. 1) è l'aumento del sarcoplasma che riempie il tubo del sarcolemma, mantenendo natanti in sè le fibrille separate fra loro (Tav. XIII, fig. 8), o gli ammassi amorfi, più o meno voluminosi, di sostanza contrattile (Tav. XIV, fig. 9), insieme ai quali possono trovarsi granuli di grasso e nuclei.

Nelle fibre colpite da lieve alterazione, come sarebbe la scomparsa della striatura, non esistono alterazioni nel numero nè nell'aspetto dei nuclei; quando invece le alterazioni sono più gravi ed estese, possono i nuclei rimanere invariati o quasi, ma generalmente sono aumentati.

Nelle numerose sezioni da me osservate, non ho mai potuto vedere nuclei in cariocinesi nè nuclei che per la loro ricchezza di cromatina e per la disposizione della medesima dimostrassero di essersi da poco riprodotti per cariocinesi: ho però osservato in qualche fibra numerosi nuclei vescicolari (sono giunto a contarne fino a 20) poverissimi di cromatina in intimo contatto l'uno coll'altro. (Tav. XI, fig. 3 e Tav. XIII, fig. 8).

In alcune altre fibre poi è visibilissimo il fatto che nuclei vescicolari e sarcoplasma fluidificato, dissociano fra loro le fibrille primitive disgregandole e spostandole (Tav. XIII, fig. 8).

Un'alterazione che ho trovata piuttosto raramente è la presenza di vacuoli, che in qualche fibra sono chiari, come se fossero vuoti o ripieni da liquido limpido (Tav. XV, fig. 11), in altre invece contengono granuli amorfi, lievemente più scuri della sostanza contrattile o gocce minime di grasso (Tav. XIII, fig. 8).

La degenerazione grassa, che è presente in tutti i muscoli da me osservati, è assai limitata e poco intensa, colpisce capricciosamente una fibra accanto a due completamente sane, e un limitatissimo frammento di una fibra che in tutta la sua restante lunghezza si mostra normale (Tav. XII fig. 4): in alcune fibre è rappresentata solo da pochi e minutissimi granuli disposti fra le fibrille, in altre da gocce più grosse e più fitte.

* * *

Le descrizioni che dai vari autori vengono date delle alterazioni osservate nei casi di dermatomiosite non sono uguali: possiamo però raggrupparle sotto tre tipi.

Alcuni hanno trovato edema del connettivo e degenerazione delle fibre muscolari: altri prevalenti fatti di proliferazione del connettivo, formazione di vero e proprio tessuto di granulazione, con distruzione delle fibre muscolari, che sono assai diminuite tanto di numero che di spessore: altri infine, focolai più o meno estesi ed intensi di infiltrazione parvicellulare con distruzione colliquativa del tessuto muscolare e connettivo, cioè veri e propri ascessi.

Io credo che facilmente possano spiegarsi queste divergenze; il primo ed il secondo tipo rappresentano due stadii successivi delle alterazioni della dermatomiosite, il terzo si riferisce a quei casi che per quanto rappresentati da lesioni muscolari multiple, non sono da riportarsi, come accennavo da principio, alla vera e propria dermatomiosite come da *Wagner*, *Hepp* ed *Unverricht* è stata descritta.

Infatti noi troviamo descrizioni di ascessi multipli muscolari nei casi di *Fränkel*, di *Neumann*, di *Rovere* ed altri che, a parer mio, hanno considerati come casi di polimiosite dei casi di pioemie con prevalente e estesa localizzazione muscolare dei focolai metastatici.

Le differenze che esistono nelle descrizioni dei casi di vera polimiosite derivano dal minore o maggior periodo di durata del male. Come chiaramente apparisce dalla descrizione dei reperti del mio caso, nel quale ho potuto sezionare dei muscoli malati da pochi giorni, la manifestazione istologica prima

della malattia è tutta di natura degenerativa; le fibre muscolari degenerano, più o meno irregolarmente, più o meno gravemente, ma degenerano e possono essere riassorbite. Ora è naturale che i muscoli dei casi recenti, dei casi cioè che vengono a morte presto per complicanze o per l'estensione stessa della malattia, presentino solo edema del connettivo e degenerazione a vario periodo delle fibre, e che invece quelli che durano a lungo presentino, come conseguenza della reazione infiammatoria, un aumento di tessuto connettivo con forme di tessuto embrionario. Confermano la giustezza di questa mia spiegazione i casi di guarigione, che qualcuno ha osservato, con trasformazione dei muscoli colpiti in fasci fibrosi.

Se noi esaminiamo ora particolarmente i risultati istologici delle ricerche da me eseguite sui muscoli malati, noi troviamo varî fatti degni di nota; primo l'alterazione dei vasi. Nelle arterie è evidente la degenerazione grassa di alcune delle fibrocellule muscolari delle pareti, ma il fatto che per me ha il maggiore interesse è la costatazione della distensione e ripienezza di tutti i capillari del diaframma nei vari punti che ho esaminati.

Il diaframma è stato fissato certamente all'inizio della sua alterazione, perchè come risulta dall'andamento clinico del caso Stiaccini, i disturbi respiratori risalivano a poche ore (forse 36) prima della morte; nel diaframma, oltre l'iperemia estesa ed intensa, non è dimostrabile altra alterazione, tranne forse un lieve edema. Mi pare perciò che non sia del tutto priva di fondamento la supposizione che nei muscoli le lesioni anatomiche comincino con una vaso-dilatazione.

Dopo la lesione vasale ci interessa la fluidificazione del sarcoplasma e la moltiplicazione nucleare: i nuclei sono in alcune fibre aumentati moltissimo e si presentano vescicolosi, a contatto reciproco e poverissimi di cromatina tanto che (Tav. XIII, fig. 8) risultano composti da una sottilissima membrana provvista di cromatina e qualche raro granulo centrale.

Se, come si ammette da alcuni [1], la proliferazione nu-

[1] Vedi G. Durante in *Manuel d'histologie pathologique* par Cornil et Ranvier, troisième édition.

cleare per divisione diretta è la prima manifestazione di sofferenza della fibra muscolare, è la cellula che reagisce, che cerca di difendersi tentando di riprendere la sua individualità, la forma plasmodiale, non deve stupirci questo aumento di nuclei, che non starebbe a rappresentare un tentativo di rigenerazione, come alcuni hanno voluto, ma soltanto una reazione cellulare.

L'aumento e fluidificazione del sarcoplasma è in alcune fibre del caso mio marcatissimo ed evidente. Alcune fibre sono letteralmente trasformate in un sacco di sarcoplasma fluido, nel quale nuotano frammenti di sostanza contrattile (Tav. XI, fig. 1): conseguenza di questa fluidificazione è l'aspetto interessantissimo che alcune fibre assumono, la divisione cioè in fasci primitivi e in fibrille, pur mantenendo la striatura trasversa (Tav. XI, fig. 2 e Tav. XIII, fig. 7 e 8).

Questa alterazione, forse osservata da altri ma non chiaramente descritta, ha per me molto valore perchè nella successione delle lesioni mi dimostra, che prima di qualsiasi degenerazione della sostanza contrattile, forse dopo subito l'iperemia, si può riscontrare nelle fibre una trasformazione del sarcoplasma che permette la separazione fra loro delle fibrille prima ancora che si manifesti la proliferazione nucleare, e le altre alterazioni notate nella descrizione dei preparati.

Da queste considerazioni risulterebbe dunque, che il sustrato anatomico principale della dermatomiosite consiste in una degenerazione della fibra muscolare per fluidificazione del sarcoplasma.

Quale la causa di queste alterazioni? Evidentemente alterazioni di questo genere non possono essere altro che dipendenti da una causa tossica: ma quale questa causa?

Qui è necessario occuparsi un poco dell'etiologia della dermatomiosite.

L'etiologia della dermatomiosite è ancor oggi oscura, nonostante che le ricerche praticate in proposito siano state diligenti e non eccessivamente rare. In mancanza di dati etiologici precisi, si sono messe avanti varie ipotesi, che possono venir riunite sotto due concetti fondamentalmente diversi.

Secondo alcuni, le alterazioni muscolari, e le cutanee quando esistono, si devono all'azione diretta di agenti patogeni, che si trovano nel luogo malato. Secondo altri invece l'agente patogeno, di varia natura, esplica la sua azione sui muscoli da lontano, per mezzo di sostanze tossiche.

Evidentemente la prima ipotesi, riferendomi a quanto ho più sopra accennato, non ha altro fondamento che quello di avere attribuito alla polimiosite primitiva di *Wagner*, casi di pioemia con localizzazioni prevalentemente muscolari. I risultati positivi ottenuti in questi casi circa la presenza nei focolai muscolari dei piogeni, non hanno valore per attribuire ad essi l'importanza di causa patogena della polimiosite primitiva.

Le ricerche batteriologiche praticate da alcuni anche poche ore dopo la morte, quelle abbastanza complete che ho potuto eseguire nel caso mio, ricerche rimaste assolutamente negative, contribuiscono a farci ritenere che i focolai di degenerazione muscolare sono certamente sterili, almeno per i germi oggi noti e coltivati, perchè in appoggio della teoria dell'azione di contatto non vale nemmeno l'affermazione di *Kader*, che dice esser possibile, per l'azione battericida propria del muscolo, trovare sterili focolai dove in un certo momento sia esistito un batterio patogeno: i flemmoni e gli ascessi pioemici informino.

Il reperto del diplococco lanceolato nel polmone e nella milza, nel mio caso, non ha certo il rapporto di causa con la polimiosite, ma bensì quello di conseguenza, essendo evidente che la broncopolmonite e il consecutivo reperto del diplococco nella milza, sono dovuti alle alterazioni della deglutizione, che hanno provocata una polmonite *ab ingestis*.

Ammesso dunque che le ipotesi del secondo gruppo sono quelle che più si avvicinano alla verità, sarà la causa patogena infettiva o soltanto tossica? sarà cioè la dermatomiosite prodotta da un germe vivente qualsiasi, oppure basterà un veleno esogeno o endogeno per produrre, entrando in circolo, le alterazioni muscolari tipiche?

Esistono nella letteratura dei casi che fanno pensare assai alla possibilità di un semplice avvelenamento, come causa

della malattia. *Boeck* osservò un caso tipico dopo una cura energica di balsamo copaive per frizione, *Litten* dopo un avvelenamento per ossido di carbonio, ma, in generale, il periodo prodromico, la febbre, il tumor di milza, che sono presenti frequentemente, l'andamento stesso della malattia talvolta lunghissimo, danno molta maggior probabilità di vero all'ipotesi dell'infezione, piuttosto che a quella dell'intossicazione.

È molto probabile dunque che causa della dermatomiosite sia un germe patogeno, forse differente da quelli ordinari da noi conosciuti, che riproducendosi in qualche regione dell'organismo malato, provoca per mezzo delle tossine, le alterazioni muscolari ormai note.

Queste tossine potranno agire sui muscoli in due guise, o per contatto diretto, introdotte in circolo e ammettendo che abbiano una speciale affinità chimica per la sostanza muscolare, oppure per l'intermediario del sistema nervoso: nel primo caso sarebbero le lesioni direttamente tossiche, nel secondo trofiche.

E qui è necessario fermarsi, finchè non sarà noto questo agente patogeno. Finchè non saranno conosciute le sue proprietà biologiche, non sarà possibile capire il meccanismo di produzione delle alterazioni speciali della dermatomiosite; contentiamoci per ora di studiare accuratamente e completamente i casi che possono cadere sotto la nostra osservazione, certi che dalla somma dei singoli casi, potrà un giorno venire il complemento delle nozioni circa questa entità morbosa.

## Bibliografia.

ADLER, Besondere Form von neuromiositis. (Deut. Med. Woch., 1894).

BACIALLI PAOLO, Contributo allo studio ed alla patogenesi ecc. (Il Policlinico, sezione medica, 1902).

CAPURRO, Sul valore della plastica nelle fibre muscolari. (Morgagni Archivio, 1901).

DURANTE, Anatomie pathologique des muscles, in Manuel de histologie pathologique par CORNIL et RANVIER, 1902 (contiene abbondante bibliografia).

GROCCO, Un caso di polinevrite con anasarca. (Rivista italiana di Clinica Medica, 1892).

HEPP, Ueber Pseudotrichinose, eine besondere Form etc. (Berliner klin. Woch., 1887).

JANOWSKY und WYSSOKOWICZ, Ein Fall von Dermatomyositis. (Deutc. Arch. f. klin. Med., 1901).

KADER, Klinische Beiträge zur Aetiologie und Pathologie der sog. primären Muskelentzündungen. (Breslau, 1897).

KÖSTER, Zur Kenntniss der Dermatomyositis. (Deutch. Zeitsch. f. Nervenheilk., 1898).

KORNILOW von, Polimyositis primaria acuta. (Deutch. Zeitsch. f. Nervenheilk., 1897).

LÉPINE, Polimyosite. (Revue de Méd., 1901).

LORENZ H., Die Muskelerkrankungen, Wien, 1898 (contiene abbondante bibliografia).

METCHNIKOFF et SOUDAKEWITCK, La phagocytose musculaire. (Annales de Pasteur, 1892).

NEUBAU, Ein Fall von akuter Dermatomyositis. (Centralblatt f. inn. Med., 1899).

NESTI G., Ricerche sperimentali sulla degenerazione cerea dei muscoli volontari. (Lo Sperimentale, 1894).

RISSE, Polimyositis acuta und akuter Gelenkreumatismus. (Deutch. med. Woch., 1897).

ROSENBLATH, Ein seltener Fall von Erkrankung der Kleineren Arterien etc. (Zeitsch. f. klin. Med., 1897).

ROSENBLATH, Ein Beitrag zur Pathologie der Polyneuritis. (Deutsch. Zeitschr. f. Nerven., IX).

ROVERE, Polimiosite suppurativa in individuo diabetico. (Rif. Med., 1894).

THOREL, Pathologie der Skelettmuskulatur Ergebniss der Algemeine Pathologie etc., 1899 (contiene abbondante bibliografia).

## Descrizione delle figure.

Tanto le fotografie che i disegni sono stati tratti da preparati fissati in *Flemming* e colorati con la safranina di *Babes*.

Le fotografie delle Tavole XI e XII vennero da me eseguite con un microscopio Koristka da proiezione, con luce monocromatica, usando per le figure 1, 3, 4, l'oculare ortoscopico Leitz n. 2 e l'ob. 5 Koristka: per la figura 5 l'oculare ortoscopico Leitz n. 2 e l'ob. 4 Koristka: per le figure 2 e 6 l'oculare 4 Leitz e imm. $^1/_{15}$ semi apocromatica Koristka.

FIGURA 1. — Quadricipite destro, vasto esterno. — In alto una fibra frammentata, sotto subito una fibra molto scura nella quale si intravede la striatura longitudinale, poi uno spazio vuoto, poi una fibra nella quale il sarcolemma disteso è ripieno da una sostanza finamente granulosa nella quale nuotano frammenti di sostanza contrattile varii

per forma e posizione: fra questa e la susseguente fibra scura con evidente divisione in fasci primitivi, si trova un capillare sanguigno nel quale sono visibili alcuni globuli rossi: in basso una fibra chiaramente scomposta in fibrille primitive con nuclei vescicolosi riconoscibili ai punti scuri rappresentanti granuli di cromatina.

FIGURA 2. — Tibiale anteriore di destra. – Evidente divisione di una fibra nei fasci primitivi con la striatura trasversa esagerata.

FIGURA 3. — Bicipite sinistro. — Abbondanti nuclei vescicolari nell'interno di una fibra.

FIGURA 4. — Bicipite destro. — In alto tre fibre poco alterate: nel mezzo della tavola una fibra caduta in preda a grave degenerazione grassa in un punto limitato mentre conserva normale la striatura in tutto il suo decorso: in basso una fibra quasi del tutto omogenea e una assai rigonfiata.

FIGURA 5. — Sartorio destro (non molto bene riuscita causa l'eccessivo spessore della sezione). - In molte delle sezioni trasverse di queste fibre esistono ben visibili i campi del *Cohnheim*.

FIGURA 6. — Sartorio destro. — Due fibre completamente divise in fibrille, fra mezzo ad esse una fibra nella quale le fibrille sono in massima parte scomposte in granuli.

FIGURA 7. — Quadricipite destro, vasto esterno. — *a*) fibre muscolari divise in fibrille; *b*) fibre muscolari divise in fasci primitivi con permanenza della striatura trasversa; *c*) fibra con frammentazione della sostanza contrattile precedentemente divisa in fibrille.

FIGURA 8. - Sartorio destro. — *a*) fibra divisa in fibrille che conservano una traccia evidente della striatura trasversa; *b*, *d*) nuclei vescicolari poverissimi di cromatina addossati ai fasci di fibrille; *c*) fibra con divisione in fibrille assai marcata: le fibrille appariscono pallide e distanti l'una dall'altra. Fra di esse esiste assai aumentato il sarcoplasma che mostra dei vacuoli irregolari contenenti nuclei, granuli di grasso e granuli di sostanza amorfa; *e*) fibra nella quale il sarcoplasma fortemente aumentato e ricco di grossi nuclei vescicolari dissocia e frammenta le fibrille.

FIGURA 9. — Bicipite sinistro. — *a*, *b*) fibre nelle quali esiste frammentazione della sostanza contrattile: in *a* esiste sempre visibile la divisione in fasci primitivi; *c*) fibra nella quale esiste oltre la frammentazione una evidente degenerazione grassa.

FIGURA 10. — Sartorio destro sezione trasversa. — *a*) fibre normali o poco rigonfiate; *e*, *e'*, *e''*) fibre nelle quali esiste una divisione longitudinale in grossi fasci di fibre primitive; *c*, *c'*) divisione in fasci primitivi con i campi del *Cohnheim* chiaramente visibili; *b*, *b*, *b'*) divisione in fibrille con abbondanza di sarcoplasma che separa le varie fibrille fra loro; *d*, *d*) fibre nelle quali la divisione in fibrille apparisce più incerta per la loro compattezza. In queste si vedono vacuoli circo-

scritti; *f*) piccola arteria circondata da connettivo edematoso con qualche raro corpuscolo bianco emigrato.

FIGURA 11. — Quadricipite destro, vasto esterno. — *a*) fibra con vacuoli; *b*, *b'*) fibre nelle quali insieme ad un disfacimento della sostanza contrattile esiste aumento di nuclei e degenerazione grassa; *c*) spazio tra fibra e fibra ripieno di granuli amorfi (albumina precipitata dai reattivi); *d*) fibra normale; *e*) fibra con frammentazione trasversa della sostanza contrattile divenuta omogenea; *g*) fibra che in parte è ridotta ad un tubo (sarcolemma) ripieno di detriti amorfi, nuclei e granuli di grasso; *f*) forte accumulo di nuclei in contatto l'uno dell'altro; *h*) fibra dove esistono residui di fibrille primitive con granuli di grasso; *i*) fibrille risultanti dalla divisione di una fibra che terminano in un ammasso amorfo di granuli.

FIGURA 12. — Arteriola di un muscolo (sartorio) con granuli di grasso presenti nelle fibrocellule muscolari delle pareti, specialmente nella vicinanza dei nuclei.

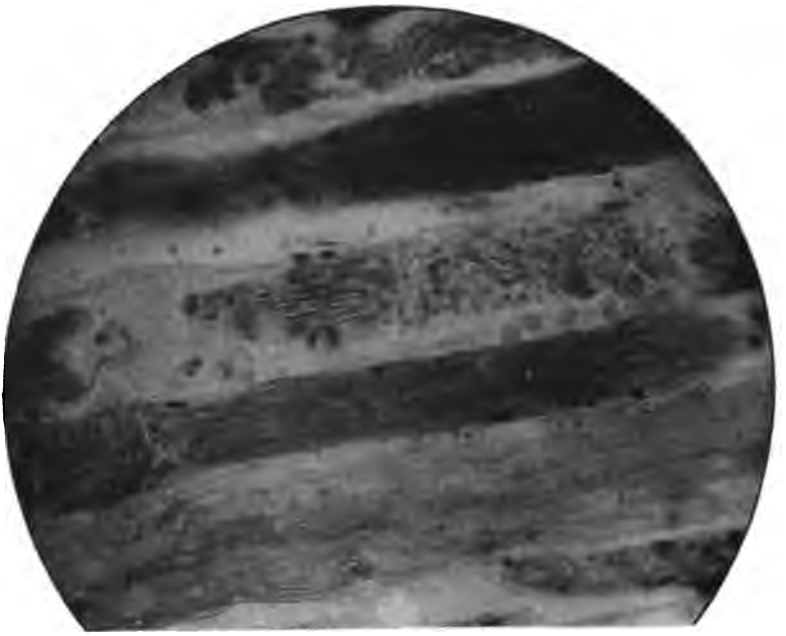
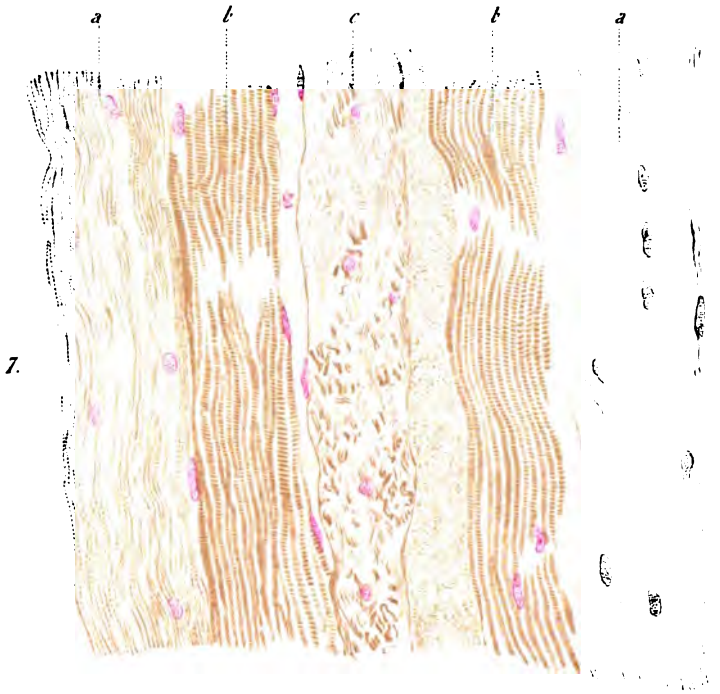


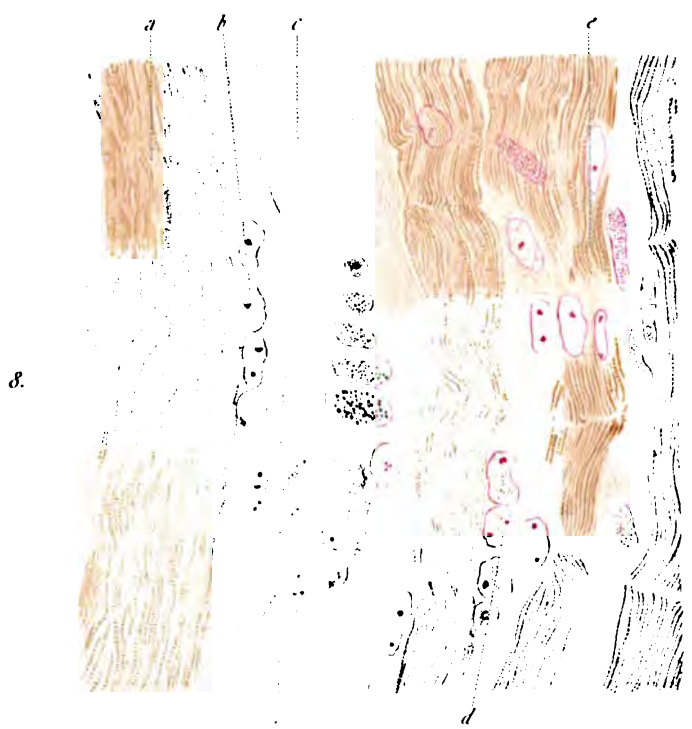
Fig. 1

Fig. 2

Fig. 3

**Picchi dott. L.** – *Contributo alla conoscenza della Dermatomiosite*

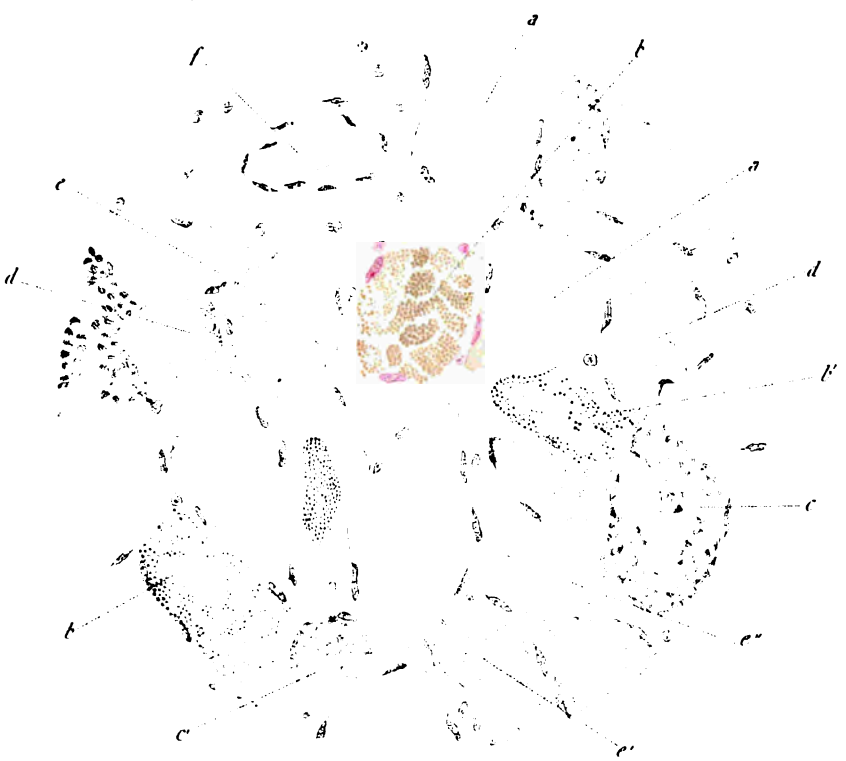



Picchi Dott. L.: *Contributo alla conoscenza della Dermatomiosite*

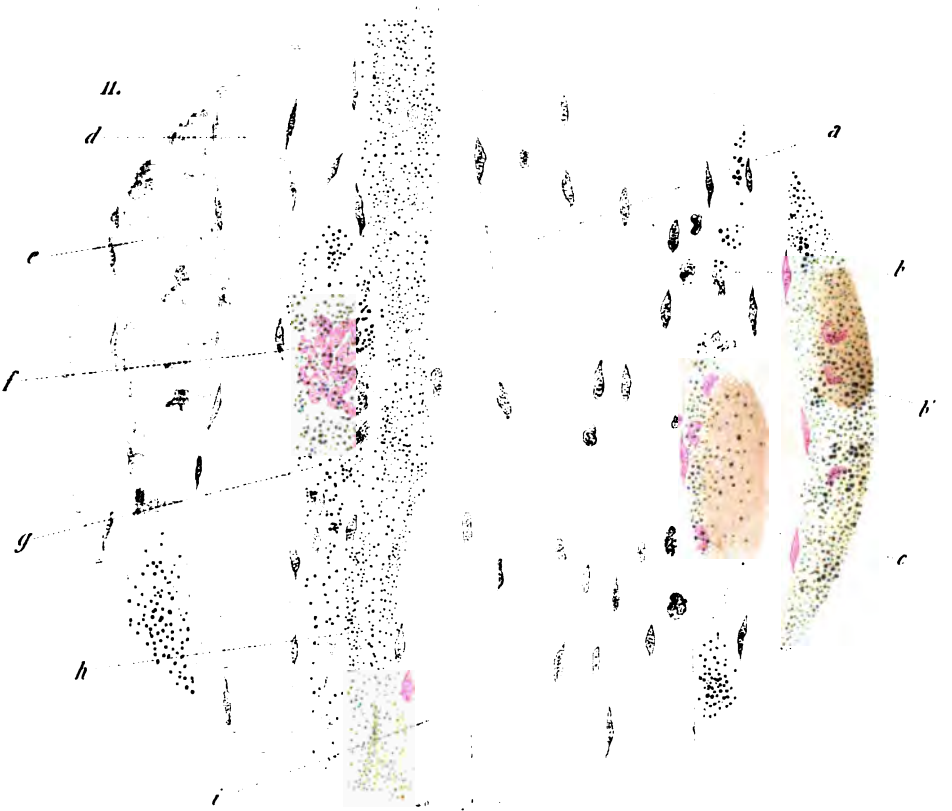
9.

10.

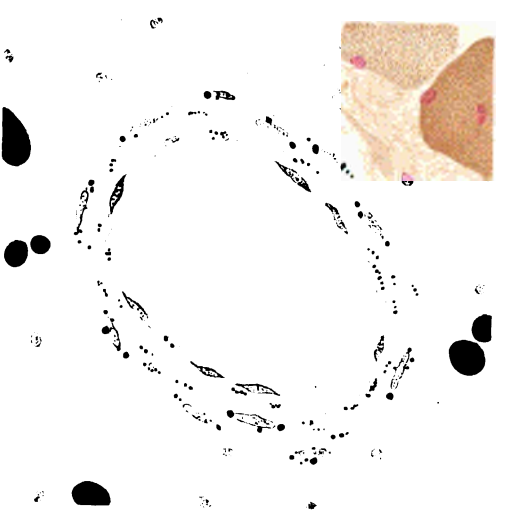



Picchi Dott. L.: *Contributo alla conoscenza della Dermatomiosite*

11.




12.



Picchi Dott. L. - *Contributo alla conoscenza della Dermatomiosite*

Istituto di Anatomia Patologica di Firenze, diretto dal Prof. G. Banti.

# GRANULAZIONI JODOFILE ED EOSINOFILE.

A PROPOSITO DI ALCUNE RECENTISSIME PUBBLICAZIONI SULLE GRANULAZIONI JODOFILE [1].

(Con una tavola in cromolitografia).

DOTT. G. PIERACCINI.

Il dott. *U. Biffi* scrivendo *sulla natura e sul significato delle granulazioni jodofile e di quelle eosinofile nei leucociti* [2], concludeva fra l'altro:

« Le granulazioni jodofile intra ed extra-cellulari dei leucociti, corrispondono perfettamente nella maggior parte dei casi e forse in tutti, alle granulazioni eosinofile e pseudoeosinofile. »

Il lavoro del dott. *Biffi* si divide in due parti; nella prima si tratta della identità fra granulazioni iodofile ed eosinofile; nella seconda si parla della natura di queste granulazioni iodoeosinofile, come appunto le chiama l'A. È della prima parte che intendo occuparmi; chè in quanto alla chimica costituzione della sostanza colorantesi coll'iodio, come anche sulla sua produzione e significato, io non oso pronunziarmi. Tutte le vedute avanzate dai diversi AA. — e fra questi pongo anche le vedute del *Biffi*, — se possono addurre a proprio sostegno fatti e considerazioni diverse, hanno anche contrarii altri fatti e considerazioni non meno importanti.

Quello che ha determinato il *Biffi* ad identificare i granuli

(1) Questo studio critico fu comunicato dal Pieraccini alla Accademia medico-fisica Fiorentina nella seduta 22 Aprile 1902.

(2) Biffi U., *Sulla natura e sul significato delle granulazioni iodofile e di quelle eosinofile nei leucociti.* (Policlinico, Vol. VIII-M., 1901).

jodofili con i granuli eosinofili è stato l'avere osservato o, a giudizio mio, l'aver creduto di osservare che le granulazioni jodofile si comportano come le eosinofile di fronte all'eosina. Disteso sopra un vetrino un sangue ricco di elementi jodofili, l'A. lo fissava od alla lampada od in alcool ed etere; con un ago tracciava poi sul vetrino alcune linee che intersecandosi fra loro determinavano dei punti facilmente rintracciabili al microscopio. Sottoposto il preparato all'azione dell'jodio (come, per quanto tempo l'A. non ce lo dice), e precisata la posizione delle granulazioni iodofile col definire i rapporti fra i leucociti jodofili e le linee scalfite sul vetrino, in modo da poter poi sempre rintracciare e riconoscere determinati leucociti, lo stesso vetrino copri-oggetti veniva lavato in alcool comune, poi in etere e successivamente asciugato con carta bibula in modo che ogni traccia di jodio fosse eliminata. Deposta poi una goccia di soluzione glicerica satura di eosina su di un porta-oggetti, vi adagiava il copri-oggetti per 24 ore; poi lavava con acqua, asciugava e montava in balsamo.

« Con questo metodo ognuno può convincersi che i granuli i quali danno la reazione jodofila, sono precisamente gli stessi che vanno descritti sotto il nome di granulazioni eosinofili e di granulazioni pseudoeosinofili. » Così scrive il *Biffi*.

Se l'osservazione del *Biffi* fosse esatta, essa sarebbe tanto significativa che bisognerebbe senz'altro accettare l'identità delle granulazioni iodofile ed eosinofile. Ma, a giudizio mio, l'affermazione del *Biffi* non regge alla critica e credo si debba anch'oggi mantenere ben netta la distinzione fra le due specie di granulazioni.

Prima di entrare in merito della importante questione bisogna precisare bene quello che oggi si deve intendere per reazione jodofila e più particolarmente per granulazioni jodofile.

In argomento di questo genere, tornare su una questione di principio può sembrare una oziosità. Realmente non è così, chè regna su questo soggetto tale confusione che leggendo gli ultimi lavori intorno alla reazione jodofila, quasi non ne intendiamo più nulla.

Io non ho la pretesa di dire oggi cose nuove, ma sento

il desiderio di tentare l'argomento per richiamare la esattezza di certi fatti remoti e stabilire il valore di certi altri recenti; anzi i primi ci daranno lume per lo apprezzamento dei secondi.

* * *

Stabilito che il glicogeno si può ritrovare nel sangue (per alcuni il glicogeno è un componente normale del sangue), volendone studiare da un punto di vista clinico le eventuali variazioni quantitative in diversi stati fisiologici e patologici ed il relativo significato semeiologico, giova per prima cosa determinare in quale forma ci si presenta e si riconosce questo glicogeno.

A vero dire la parola « glicogeno » compromette la questione stessa, in quantochè se il parlare di « reazione jodofila » non ci pregiudica in nulla, col dire « reazione glicogenica » si emettono giudizii sulla composizione chimica di questa sostanza che si colora in bruno-mogano coll'jodio.

La natura chimica di questa sostanza non è ancora concordemente definita e sarebbe preferibile parlare di reazione jodofila dei leucociti e del sangue, anzichè di reazione glicogenica; ma per comodità di dire e per meglio intendersi colle citazioni che dovrò richiamare nel corso di questo scritto, dato atto di questa dichiarazione, anch'io userò indifferentemente l'una o l'altra di queste espressioni.

È d'uopo ricordare che *Erhlich* (1) (che insieme a *Frerichs* si servì per il primo dello esame microchimico per la dimostrazione della sostanza jodofila), ritenne che questa sostanza fosse realmente glicogeno, e benchè questa opinione sia stata in seguito contrastata o apertamente negata (così da *Czerny* prima e recentemente da *Biffi*), tuttavia è certo che la maggioranza degli AA. persiste nel considerare la sostanza jodofila come glicogeno (2).

(1) Ehrlich und Frerichs, *Ueber das Vorkommen von Glycogen im diabetischen und im normalen Organismus.* (Zeit. f. Klin. Med., 1883, Bd. 7, S. 33).

(2) Anche all'ultimo « Congresso tedesco di medicina interna » tenuto a Wiesbaden dal 15 al 18 aprile 1902, le parole di *Ehrlich*, *Kaminer*, *Minkowski* rafforzarono il concetto che il glicogeno sia il substrato della reazione jodofila.

Giova pure ricordare che è accettato da molti AA. anche quell' altro insegnamento di *Ehrlich* che riconosce trovarsi la sostanza jodofila uniformemente distribuita nel protoplasma dei globuli bianchi viventi o morti da poco, e che poi, o per la morte della cellula o per azione dei reagenti, questa stessa sostanza jodofila venga ad aggrupparsi in forma di granuli e di zolle nei leucociti, oppure si dissemini anche fuori della cellula quando essa cellula si disgreghi.

*Czerny* (1), *Lubarsch* (2) confermarono che realmente nella cellula vivente la sostanza jodofila è diffusa nel protoplasma anzichè raccolta in granuli. *Tarchetti*, *Parodi*, *Pacchioni* accettano e confermano queste vedute, che io pure condivido.

Premesso tutto questo ed al di fuori per parte mia da ogni concezione e preoccupazione d'ordine chimico sulla sostanza jodofila, se ci facciamo a considerare sotto quali forme ci si rivela questa sostanza jodofila a mezzo della indagine microchimica, s'incontra che mentre *Ehrlich* e *Frerichs* nel 1883 e subito dopo gli altri AA., che si occuparono dello argomento, ce la descrissero sotto due forme differenti, cioè come granulazioni intraleucocitiche assumenti coll' jodio una bella colorazione bruno-mogano spiccatamente caratteristica, o come granulazioni extracellulari provenienti da corpuscoli in disgregamento (Zerfallskörperchen (3)), si trova che in seguito la fisonomia istochimica della sostanza jodofila ha mano a mano cambiato di aspetto col succedersi delle pubblicazioni. Ciò è tanto vero che si giunge a tre degli ultimi lavori sulla reazione jodofila pubblicati nel corso del 1900-901, che descrivono la sostanza jodofila in tre maniere diverse e fra loro in aperto contrasto.

Per ordine di data incontriamo che *La Franca* (4) in un suo studio clinico, parla di *cellule jodofile* e senza darsi cura

---

(1) A. Czerny, *Zur Kenntniss der glikogenen und amiloiden Entartung.* (Arch. f. experiment. Path. u. Pharmak., 1898, Bd. XXXI).

(2) Lubarsch u. Ostertag, *Ergebnisse der alg. path. Morphologie und Physiol.* A pag. 169 del capitolo *Glycogendegeneration.*

(3) Confronta Ehrlich und Lazarus, *Die Anemie*, 1901.

(4) S. La Franca, *Sul valore clinico delle cellule iodofile nel sangue.* (La Riforma medica, 11 e 12 luglio 1900, n. 9-10).

di dirci con precisione sotto quale forma la sostanza jodofila si presentasse alla sua osservazione, usa un linguaggio dal quale apparisce come egli abbia considerato e qualificato col nome di reazione jodofila il colorito gialliccio diffuso, uniforme, che assume *in toto* il protoplasma del leucocita esposto all'azione dell'jodio. Nel lavoro del *La Franca* — una ricca serie di esami di sangue — non si trova infatti nulla di più preciso di queste espressioni:

« Reazione jodofila negativa;

« Reazione jodofila normale;

« Numerose cellule acquistano una colorazione giallastra;

« Si osservano numerosi leucociti tanto piccoli linfociti mononucleari, quanto grandi leucociti mononucleari, colorati in gialletto. Nel campo più ricco se ne contano fino a sei. La reazione è molto debole;

« Alcuni linfociti presentano la reazione jodofila; quantunque le cellule non siano numerose presentano un colorito gialletto alquanto spiccato;

« La reazione jodofila è evidentissima. Numerosissime cellule sono colorite in gialletto. Esse sono grossi leucociti mononucleari e piccoli linfociti. Nel campo più ricco se ne contano 10. C'è aumento considerevole delle zolle extracellulari che presentano la reazione jodica;

« Le zolle extracellulari sono aumentate » oppure « diminuite », « normali » ecc. »

*Pacchioni* [1] in un lavoro pubblicato pochi giorni dopo quello del *La Franca*, allorchè definisce la reazione jodofila parla di granuli jodofili entro i globuli bianchi, riconoscendo che « la quantità di glicogeno in generale è realmente piccola, avendo trovato per lo più due o tre leucociti soltanto con scarsissimi granuli (uno o due) su due preparati. » « Soltanto raramente si osserva il glicogeno extracellulare. » « Tutte le parti contenenti glicogeno sono caratterizzate da una manifesta colorazione rosso-mogano. »

---

[1] Pacchioni, *La reazione del glicogene nel sangue in alcune malattie dei bambini*. (La clinica moderna, 25 luglio 1900).

Finalmente *Biffi* (1) ci descrive le granulazioni jodofile intracellulari uguali alle granulazioni eosinofili, cioè rotondeggianti, ben distinte, in buon numero, stipate entro il protoplasma e serrate attorno al nucleo del leucocita polimorfo; oppure sotto forma di granulazioni extracellulari a gruppo sparso a sciame, come appunto ci accade non di raro di osservare per le granulazioni dopo che un leucocita eosinofilo si è disgregato.

Viene fatto di domandarsi: dov'è la verità delle cose? a chi credere?

* * *

Ad uscire da tale intricata situazione, una questione pregiudiziale s'impone; stabilire cioè cosa si debba intendere per reazione jodofila, e precisare non solo la forma sotto cui rivelasi la sostanza jodofila, ma anche il tono di colorazione jodica.

*La Franca* ci parla delle zolle jodiche extracellulari aumentate, diminuite, normali; ma cosa mai significa questo linguaggio che presuppone e deve presupporre un termine di confronto?

Vediamo la letteratura medica. *Ehrlich*, *Tarchetti* e *Parodi*, *Hofbauer* (2) ed altri affermano che nel sangue normale quasi eccezionalmente si può riscontrare qualche granulo jodofilo intra od extra globulare; *Czerny* nega che se ne trovi nel sangue dei sani, e *Livierato* (3), *Goldberger* e *Weiss* (4) ammettono che la sostanza jodofila esista costantemente nel sangue dei sani, ma però soltanto extracellulare.

Ora, quando si vuol determinare e misurare la reazione jodofila intra ed extracellulare nel sangue, si deve prima, o con ricerche personali o in base a ricerche di altri, stabilire qual'è l'unità di misura a cui ci si riferisce, per avere e dare una idea approssimativamente esatta delle cose.

*La Franca* nel suo lavoro non dice nemmeno esplicita-

(1) U. Biffi, loc. cit.
(2) Hofbauer, *Centralblatt f. innere Med.*, n. 6, 1900.
(3) Livierato, *Archivio italiano di clinica medica*, punt. III, 1893.
(4) Goldberger und Weiss, *Wien. Klin. Woch.*, n. 25, 1897.

mente se ammette che sostanza jodofila si ritrovi nel sangue del sano!

Torniamo dunque a ben precisare i termini di ciò che s' intende per reazione jodofila nel sangue dell' uomo.

A questo proposito io non saprei fare meglio che riportarmi a quanto ha scritto il *Kaminer* (1) in un accurato lavoro pubblicato nell' aprile del 1899. *Kaminer* distingue tre stadii di reazione jodica intracellulare nel sangue dell' uomo. Nel primo stadio si ha una colorazione diffusa rossiccia (röthlich) del protoplasma, con nucleo incoloro; nel secondo la colorazione è circoscritta, granulare (*Körnelung*), cioè si vedono evidenti spiccare nel protoplasma granuli e zolle più o meno intensamente coloriti in bruno (mehr oder weniger intensiv braun gefärbte Körnchen und Schollen). Nel terzo stadio il protoplasma è completamente trasformato in masse brune, e solo il nucleo apparisce incoloro.

Il *Kaminer* di questi tre stadii di reazione jodica non ha mai trovato esempio nel sangue normale umano; nel sangue di malati ha trovato rarissimamente il terzo stadio, meno di rado il primo e di gran lunga frequentissimo il secondo, ossia quello della colorazione bruna granulare. Per *Kaminer* rarissimamente s' incontrano nel sangue elementi jodofili extracellulari, ed in ogni caso non in individui sani, ma in ammalati.

Questi insegnamenti così concisi e netti non sono che una filiazione diretta ed una illustrazione fedele di quanto *Ehrlich* scrisse nel 1883, quando dimostrò nel sangue e nel pus la presenza di una sostanza che ritenne glicogeno, quando differenziò una forma di glicogeno endocellulare ed una extracellulare, una forma diffusa allo stato fresco, da una forma in granuli allo stato secco del preparato, ecc.

A questi insegnamenti ed a questi criterî si è certamente riportato il *Pacchioni* nella sua succitata memoria, talchè mentre l' A. ci apparisce chiaro nella esposizione e nel precisare

(1) S. Kaminer, *Leukocitose und Jodreaction in Leukocyten.* (Deutch. med. Wochens., n. 15, aprile 1899).

i fatti osservati, ci offre anche dati confrontabili con quelli di altri Autori.

Ma come intendere le resultanze del *La Franca* e del *Biffi?* Certo non si conciliano con le note che ho riferito più sopra e che sono accettate dalla maggioranza degli scienziati; e se in argomento tanto controverso fosse permesso esprimere la mia modesta opinione, direi che in seguito a numerose ricerche sulla reazione jodofila nel sangue e nel pus, condivido pienamente le vedute del *Kaminer*. Ho veduto anch' io che quasi tutti i globuli bianchi insieme a tutti i globuli rossi, assumono per l'azione dell' jodio una tinta gialletta o giallastra diffusa uniforme; ma non posso convenire con *La Franca* che questa colorazione o reazione rappresenti la reazione jodofila quale classicamente s' intende. La reazione jodofila del sangue è rappresentata « da goccioline di glicogeno ora rotonde ora allungate, attorno alle quali si trova per solito un alone chiaro non colorabile coll' jodio » (*Ehrlich*), e queste goccioline o granulazioni come comunemente si dicono, colorate in rosso-bruno spiccano sul fondo giallastro del protoplasma del leucocita polinucleare, giacchè è quasi sempre il leucocita polinucleare che contiene questa varietà di granulazioni.

Il dott. *Biffi* poi, si è formato della reazione jodofila una concezione diametralmente opposta a quella del *La Franca*; non più colorazione uniforme diffusa della cellula, ma colorazione di granulazioni ben distinte, numerose, endo od extra leucocitiche e, come altrove ho detto, ha identificato le granulazioni jodofile con le eosinofile.

Questa concezione del *Biffi* delle granulazioni jodo-eosinofile è per me completamente errata. Come ebbi a notare, è verissimo che l' jodio colora in giallo tutti i leucociti più o meno distintamente a seconda del tempo e del metodo più o meno intensivo di azione jodica; è verissimo, diceva, che l' jodio colora in giallo anche le granulazioni eosinofili (fig. 4 e 5 della qui annessa tavola) come tutte le altre granulazioni dei polinucleati; e siccome poi le granulazioni eosinofili sono relativamente più voluminose delle altre granulazioni basofili e neutrofili, così è che queste granulazioni eosinofili ci appariscono distinte per un

colorito giallastro splendente che ci colpisce più e meglio di quello delle altre granulazioni (fig. 4 e 5). Ma se è vero, come è verissimo, che anche le granulazioni eosinofili possono essere colorate dall'jodio, è altresì tanto vero che queste granulazioni non assumono mai una colorazione rosso-bruna quale si dà appunto come caratteristica della reazione jodofila (fig. 4). Ma anche se si volesse ammettere, sforzando la verità delle cose, che le granulazioni eosinofili sono nel senso ora detto jodofile, non si potrebbe mai sostenere l'inverso, cioè che le jodofile sono eosinofile, il che sarebbe necessario per ritenere esatto il concetto del *Biffi* che identifica le due varietà di granulazioni. La affermazione del *Biffi* è dunque erronea, perchè inesatta fu l'osservazione dei fatti.

Io ho preso dei vetrini copri-oggetti con sangue tolto ad un malato di anchilostomiasi, nel quale si trovavano oltre il 50 % di eosinofili; alcuni di questi vetrini ho esposto ai vapori d'jodio per minuti ed anche per 24 ore; altri ne ho coloriti col *Lugol*, altri con soluzione gommosa jodica, seguendo i precetti comunemente raccomandati per mettere in evidenza le granulazioni jodofile. Orbene, questo sangue di anchilostomiaco rivelò presenza di granuli jodofili intracellulari a colore rosso-mogano nel 4-6 % circa dei leucociti, mentre se vera fosse stata la tesi del *Biffi*, io avrei dovuto osservare una proporzione enormemente maggiore.

Viceversa; io raccolsi sopra vetrini copri-oggetti del siero-pus da una vessica determinata da vessicatorio cantaridato che agì per 24 ore. (Si trattava di un uomo cinquantenne, affetto da sciatica unilaterale, sano per tutto il resto e non sottoposto a speciali cure medicamentose). Trovai in questo siero-pus circa il 5-10 % di eosinofili, ed una quantità di granulazioni jodofile da me mai vista fino a quel momento [1]. Non vi era cellula polinucleata che non contenesse 1-2-4 tipiche granulazioni jodofile, mentre altre cellule polinucleate ne contenevano un

[1] Che io mi sappia non si era fin qui da alcuno studiato il contenuto di sostanza jodofila nel siero da vessicatorio cantaridato. Come si legge nei trattati questo siero è realmente ricco di cellule eosinofile, ma è addirittura ricchissimo di sostanza jodofila.

numero maggiore fino ad aversi delle cellule addirittura ripiene di granulazioni jodofile (fig. 1, 2, 3), ed altre assai più scarse presentavano una colorazione rosso-bruna diffusa con punti più intensamente colorati verso la periferia. Orbene, queste cellule, che secondo la concezione del *Biffi* mi avrebbero dovuto dare una percentuale altissima di eosinofili, mi dettero solo il 5-10 % e mentre le cellule eosinofili si presentavano in questi esemplari a granulazioni numerose e stipate, non si osservava neppure una sola cellula che contenesse 1-2-4 soli granuli eosinofili, allorchè, come sopra ho detto, numerosi erano i polinucleati dei vetrini di confronto i quali contenevano un sì scarso numero di granulazioni jodofile.

Io non aveva mai osservato una reazione jodofila così spiccata come ci offrì questo caso, e con me neppure i colleghi di laboratorio. Ci colpì anzi una vera rassomiglianza fra alcuna di queste cellule e quelle raffigurate dal *Livierato* [1] nella tavola cromolitografata che accompagna la sua pubblicazione del 1893 e che *Livierato* trovò nel sangue di ammalati.

A me non è mai accaduto di riscontrare nel sangue umano leucociti così carichi di granulazioni jodofile come ne rinvenni in quel siero-pus da vessicante, e neppure in quello stesso individuo che mi fornì questo siero-pus rinvenni nulla di simile nel sangue circolante; solo ebbi a notarvi qualche raro granulo endo- ed extracellulare (fig. 4 e 5). Neanche nel sangue di blenorragici (blenorragia di circa un mese di età) che pure ci presentano nel secreto uretrale corpuscoli purulenti molto ricchi di granulazioni jodofile, mai mi sono imbattuto in leucociti jodofili simili a quelli raffigurati da *Livierato*, e che anzi pare abbiano servito di modello al *Biffi* — il fatto è di notevole importanza — quando il *Biffi* ha creduto di potere stabilire quali erano i granuli e quali le cellule jodofile.

Questo punto merita un commento. Io non voglio nè posso negare che *Livierato* abbia descritto e raffigurato quello che ebbe realmente ad osservare, ma sta il fatto che ad una serie di studiosi che si sono occupati della reazione jodofila, mai è

---

[1] LIVIERATO, loc. cit.

occorso vedere cellule jodofile così ricche e stipate di granulazioni jodofile, come le ebbe ad osservare *Livierato.*

*Pacchioni* (1) a questo proposito scrive: « Non ho mai trovato dei leucociti così stipati di granulazioni jodofile, come quelli designati da *Livierato, che assomigliano per la ricchezza delle granulazioni a vere cellule eosinofili.* »

Ora, dato anche che leucociti simili a quelli descritti dal *Livierato* si possano in determinate circostanze riscontrare nel sangue di alcuni ammalati, questo deve certamente rappresentare una eccezione, e la loro immagine non può costituire uno *specimen* su cui modellare le nostre idee per ciò che è cellula bianca del sangue con granulazioni jodofile.

Il *Biffi* è stato tratto in inganno nelle sue osservazioni da questi due fatti: dalle rappresentazioni che *Livierato* ha dato alle cellule jodofile e in parte dalla stessa descrizione che ne dà lo stesso autore; poi dal colorito gialliccio che assumono le granulazioni eosinofile sotto l'azione dello jodio (fig. 5).

E che sia così e non altrimenti parrebbe venisse confermato da alcune espressioni usate da *Biffi* nel suo scritto. Egli infatti non volendo essere frainteso circa a quello che intende per granulazioni jodo-eosinofili dice: « Io non nego la possibilità che in preparati di sangue disseccati, *nello interno dei leucociti o nel plasma qualche granulo di glicogeno precipiti per evaporazione;* affermo però che dalle descrizioni della grande maggioranza degli AA., risulta chiaro come essi abbiano inteso parlare di quelle granulazioni che si tingono anche coll'eosina, *fatto su cui non mi rimase alcun dubbio dopo aver visto la tavola cromolitografica del Livierato.* »

Io ripeto ed affermo che la tavola del *Livierato* non risponde affatto a quello che si suole osservare nei leucociti del sangue, almeno nella massima parte dei casi; che la tavola del *Livierato*, che dovrebbe essere un modello di ciò che più ordinariamente si vede in fatto di reazione jodica del sangue, può facilmente trarre in inganno; che l'affermazione del *Biffi*

(1) Pacchioni, loc. cit.

che « dalle descrizioni della grande maggioranza degli AA. risulti chiaro come essi parlando delle granulazioni jodofile abbiano inteso parlare di quelle che si tingono anche coll'eosina », non risponde alla esattezza delle cose. E tanto ciò apparisce vero, che l'ultima affermazione del *Biffi* è smentita anche dal solo confronto delle pubblicazioni di *Livierato*, *La Franca*, *Pacchioni*, che abbiamo preso principalmente a considerare e che ci offrono dati tra loro non paragonabili per la diversa concezione della reazione jodica che si è formato ciascuno di quegli Autori.

* * *

La tesi sostenuta dal *Biffi* è dunque per me fondamentalmente errata, perchè basata sopra erronea interpretazione di fatti. Ma di più, anche astraendo da tutte le considerazioni da noi fatte fin qui, la tesi del *Biffi* non si regge neppure su quegli argomenti di secondaria importanza con cui ha voluto rafforzarla l'A., anzi anche da questi argomenti è contradetta.

Il *Biffi* scrive « sembrargli una coincidenza molto *curiosa* questa: che gli autori i quali si sono occupati del rapporto fra granuli jodofili e granuli eosinofili da una parte e morfologia dei leucociti dall'altra, abbiano tutti asserito che tanto i primi quanto i secondi si trovano quasi esclusivamente nei globuli bianchi a nucleo polimorfo. » La coincidenza, non nego, potrà al *Biffi* sembrare *curiosa*, come potrebbe dirsi curiosissimo il ricordare che sono le medesime cellule polinucleate quelle che contengono oltre i granuli jodofili ed eosinofili, anche i neutrofili ed i basofili!!

« Un altro validissimo argomento (alla tesi del *Biffi*) sarebbe portato dalle ricerche del *Galli* [1] eseguite contemporaneamente alle mie (è il *Biffi* che così scrive) in questo stesso laboratorio. Quantunque il *Galli* non abbia fatto un conteggio degli elementi jodofili, pur tuttavia resulta alla tavola N° 4 del suo lavoro, che esiste una manifesta relazione fra il nu-

[1] P. Galli, *Il valore clinico della reazione jodofila nel sangue.* (Policlinico, Vol. VIII-M., 1901).

mero delle cellule eosinofile e l'intensità della reazione iodofila e ciò indipendentemente dalla malattia da cui l'infermo era affetto, la qual cosa dovrebbe sembrare *ben strana* a chi non ammettesse quanto io affermo (cioè l'identità fra granuli iodofili ed eosinofili). »

Anche se la cosa fosse *strana*, non per questo cesserebbe di esser vera; ma il male si è che l'affermazione di fatto del *Biffi* è tanto recisa quanto è inesatta.

Nel lavoro del *Galli* si dice solamente « che se non sempre certo spesse volte esiste realmente un rapporto fra l'intensità della reazione ed il numero degli eosinofili », e dalla tavola N° 4 appare (contrariamente alle affermazioni del *Biffi*) che sopra 36 esami di sangue in cui si contarono più di una eosinofila per cento globuli bianchi, *si ebbero 4 casi con reazione iodofila negativa.*

Dal che resulta che il *Biffi* male a proposito cerca appoggio alla propria tesi nelle resultanze dello studio del *Galli.*

E perchè poi il *Biffi* dimentica che è contrastato che granulazioni iodofile si rinvengano nel sangue normale, che anzi alcuni lo negano del tutto, mentre concordemente si ammette che nel sangue normale s'incontrano dal 2-3 per cento di eosinofili?

Ma prima di finire voglio ancora rilevare che nello stesso scritto del *Biffi* si trovano i germi di una autocritica distruttiva.

*Biffi* scrive: « Se in tutti i casi poi i granuli jodofili siano anche eosinofili e se gli eosinofili siano sempre jodofili è una questione che rimane ancora da risolversi. Io sono fermamente convinto della loro identità, quantunque non mi sia riuscito sempre di colorare coll'eosina i granuli dapprima colorati coll'jodio, ecc. »

E più avanti: « Mi preme intanto di fissar bene fin d'ora che le granulazioni jodofile descritte dai vari autori e dal *Livierato* riprodotte in una nitida tavola cromolitografica, non sono altro (*almeno per la massima parte*) che le granulazioni eosinofile. »

Ed in un altro punto: « Io non nego la possibilità che in preparati di sangue disseccato, nell'interno dei leucociti o nel

plasma *qualche granulo di glicogeno precipiti* per evaporazione del solvente. »

Il *Biffi* si è circondato di queste opportune riserve perchè realmente così gli ha dettato l'obiettività della osservazione e l'onestà di coscenzioso indagatore. Non tutte le granulazioni che sono colorate dall'iodio — dice in sostanza il *Biffi* — assumono poi la colorazione eosinica; ciò accade appunto, rispondiamo noi, per quelle ragioni più innanzi esposte e cioè che *Biffi* non ha ben differenziato granulazioni da granulazioni, le diverse tonalità di tinzione jodica, e non ho veduto che quelle poche granulazioni jodofile che erano refrattarie a tingersi colla eosina, erano appunto esse sole le vere e tipiche granulazioni jodofile.

Si vuole un'ultima prova che *Biffi* ha confuso le granulazioni jodofile con le eosinofile? *Biffi* ha scritto: « che le granulazioni jodofile descritte e riprodotte dal *Livierato* non sono altro che le granulazioni eosinofile. »

Orbene, *Livierato* in quello stesso lavoro citato dal *Biffi*, scrive che « nella polmonite fibrinosa, fra tutte le malattie acute, la reazione glicogenica nei globuli bianchi del sangue è più spiccata; e che la quantità è in rapporto colla estensione del processo polmonare e col grado della temperatura. »(1)

Ora per gli studi di *Türck* (2) e d'altri sappiamo che durante lo svolgersi di una polmonite e quando domina l'alta temperatura, non si rinvengono eosinofili nel sangue circolante!!...

Come dunque conciliare gli studii, le osservazioni, le affermazioni del *Biffi* con questi fatti contradittorii? Non vi ha altra conciliazione che negare che le granulazioni jodofile corrispondano alle granulazioni eosinofile.

---

(1) LIVIERATO, loc. cit., pag. 402.

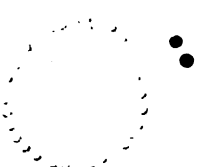
(2) TÜRK W., *Klin. Untersuchungen über das Verhalten des Blutes bei acuten Infectionskrankheiten*, 1898.

*1.*

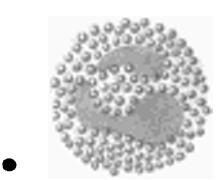
*2.*

*3.*

*4.*



*5.*



*6.*

Dott. G. Pieraccini — *Granulazioni iodofile ed eosinofile.*

*L. Peraccini dis.*

## Spiegazione delle figure.

FIGURE 1, 2, 3. — Cellule polinucleate contenute nel siero prodotto da un vessicante cantaridato, ricche di numerosissime granulazioni jodofile; in alcuni punti queste granulazioni sono addirittura stipate le une sulle altre. La figura 2 presenta una zolla nel suo polo inferiore un po' a destra.

FIGURE 4, 5. — Cellule eosinofile di sangue circolante (il paziente portava un vessicante cantaridato), colorite in gialletto dallo jodio. La cellula n. 4 contiene tre granuli jodofili. A destra in alto della cellula n. 5, due granuli jodofili extracellulari.

FIGURA 6. — Cellula eosinofila appartenente al medesimo sangue che fornì le cellule delle figure 4 e 5. (Colorazione all'emallume ed eosina).

# RICERCHE SULL'AZIONE BIOCHIMICA
# DI ALCUNI NUCLEOISTONI E NUCLEOPROTEIDI

DEL DOTTORE

**AMEDEO HERLITZKA** E DI **ANGIOLA BORRINO**

assistente allieva

nel Laboratorio di Fisiologia di Torino.

Lo studio dei processi catalitici che avvengono nella compagine dei singoli organi e dei singoli tessuti ha assunto negli ultimi anni un'importanza notevole, ma ha mantenuto finora un carattere ancora molto frammentario. Specialmente la determinazione della natura chimica dei catalizzatori non ha sempre potuto procedere molto sollecitamente. Solo lo studio del fibrinfermento sembra si avvii ora, per questo riguardo, ad una soluzione. Le prime ricerche per tale rapporto sono quelle di *Lilienfeld* (1, 2, 3). Questo autore ottiene dall'estratto acquoso di timo, per precipitazione con acido acetico diluito, una sostanza che dapprima interpretò come leuconucleina e poi come nucleoistone, composta di istone e di nucleina. Questo nucleoistone di *Lilienfeld* aggiunto al fibrinogeno in presenza di sali di calcio determina la formazione di fibrina. Secondo *Lilienfeld* il nucleoistone rappresenterebbe lo zimogeno, che per azione dei sali di calcio si scinderebbe in istone e in nucleina; quest'ultima provocherebbe la coagulazione del fibrinogeno e sarebbe quindi il fibrinfermento.

*Pekelharing* (4) isolò dal sangue un nucleoproteide, che in presenza di sali di calcio determina pure la coagulazione del fibrinogeno; secondo *Pekelharing* il nucleoproteide in parola è lo zimogeno del fibrinfermento; quest'ultimo poi sarebbe la

combinazione calcica del nucleoproteide, in cui il nucleoproteide stesso agirebbe da acido leggero.

Per le recenti e belle ricerche di *Huiskamp* (5) pare si debba accettare piuttosto la concezione di *Pekelharing* sull'azione dei sali di calcio nella formazione del fibrinfermento dallo zimogeno, che non quella di *Lilienfeld.*

Anzitutto *Huiskamp* ha dimostrato che il nucleoistone di *Lilienfeld* non è una individualità chimica come questi credeva, ma è un miscuglio di due sostanze: di un nucleoistone, cioè, e di un nucleoproteide. *Lilienfeld* sosteneva l'individualità chimica del suo nucleoistone, basandosi sulla sua analisi elementare, che aveva dati risultati costanti e aveva precisamente dimostrato la presenza del 16,86 °/₀ di azoto e del 3,025 °/₀ di fosforo. Anche noi nell'analisi del cosidetto nucleoistone del timo, preparato secondo lo stesso metodo adoperato da *Lilienfeld*, abbiamo trovato per le singole preparazioni numeri costanti e che si scostano poco da quelli di *Lilienfeld* (16,03 °/₀ di azoto, 3,40 °/₀ di fosforo). Ma le ricerche di *Huiskamp* dimostrano chiaramente, che con l'acido acetico diluito si precipitano dall'estratto acquoso di timo due sostanze diverse. Noi dobbiamo perciò ammettere che la costanza dei risultati dell'analisi elementare non basta ancora a dimostrare l'individualità chimica di una sostanza precipitata da un estratto di organi. Quando un organo, in cui i singoli componenti morfologici entrano sempre in proporzioni costanti, venga sottoposto sempre alle stesse manipolazioni con le stesse quantità di reagenti, anche le sostanze che se ne estraggono staranno tra di loro in rapporti costanti, per modo che il loro miscuglio darà sempre gli stessi risultati all'analisi elementare.

Un accenno alla presenza di due sostanze simili nel timo era già venuta da *Fleroff* (6) che trattando il timo con una soluzione al 2 °/₀ di $H_2SO_4$ aveva ottenuto due sostanze, l'una precipitabile con l'ammoniaca (istone), l'altra non precipitabile con questo reagente (paraistone); quest'ultima si differenzia nettamente dall'istone per le sue reazioni.

Più tardi *Malengreau* (7) mediante la precipitazione fra-

zionata con solfato di ammonio ottenne pure due sostanze, che egli chiama nucleoalbumine, di cui l'una precipitabile a semisaturazione, l'altra a tre quarti di saturazione; da ambedue queste nucleoalbumine ottenne con HCl un istone, che precipita alla stessa concentrazione di $(NH_4)_2 SO_4$ come il composto nucleinico dal quale proviene.

Ma uno studio veramente sistematico sui composti nucleinici del timo è quello di *Huiskamp*. Trattando l'estratto acquoso di questa ghiandola con una soluzione di $Ca Cl_2$ si ottiene un precipitato quando questo sale si trovi nella proporzione dello 0,1 % nell'estratto; quando la concentrazione del sale superi lo 0,5 % il precipitato si ridiscioglie. L'*optimum* per la precipitazione è il titolo di 0,1 %, anche perchè il precipitato così ottenuto è più facilmente solubile in acqua addizionata di qualche goccia di ammoniaca, il che rende più agevole la purificazione della sostanza, che da questa soluzione ammoniacale si precipita di nuovo per l'aggiunta di altro $Ca Cl_2$. Il precipitato così ottenuto è un vero nucleoistone; trattato con H Cl in soluzione di 0,8 % lascia un residuo indisciolto di nucleina, mentre in soluzione passa l'istone. *Huiskamp* ha potuto dimostrare che il nucleoistone si trova nel precipitato determinato dal $Ca Cl_2$ sotto forma di una vera combinazione calcica, in cui il necleoistone agisce da acido. Anche con $Ba Cl_2$, con $Mg SO_4$ il nucleoistone precipita entrando in combinazione con il rispettivo metallo; con Na Cl. la precipitazione è incompleta: l'*optimum* di concentrazione di questo sale è 0,9 %. Anche gli altri sali alcalini precipitano il nucleistone. Il nucleistone avrebbe così una funzione acida; difatti, lavando la sua combinazione calcica con acido acetico per liberarlo dal Ca e lavando poi il nucleoistone fino a reazione neutra, se alla sua sospensione si aggiunge ammoniaca, una parte del nucleoistone si scioglie, rimanendo neutra la reazione; aggiungendo altra ammoniaca, una parte sempre maggiore del nucleoistone passa in soluzione e la relazione rimane sempre neutra finchè tutto il nucleoistone non sia sciolto. Il nucleoistone in combinazione con i metalli alcalini è facilmente solubile, in combinazione con i metalli

terrosi è difficilmente solubile, il nucleoistone puro è insolubile. Perciò è probabile che nell'estratto acquoso di timo il nucleoistone si trovi in combinazione con metalli alcalini.

Dall'estratto acquoso di timo, da cui si sia separato nel metodo ora citato il nucleoistone, si ottiene un nuovo precipitato per l'aggiunta di acido acetico diluito. Questo precipitato è costituito da un nucloproteide. È chiaro perciò che il nucleoistone di *Lilienfeld* non era che un miscuglio di nucleoistone e di nucleoproteide, perchè tutti due precipitano per azione dell'acido acetico. Il nucleoproteide ridisciolto precipita pure per azione del $Ca\,Cl_2$ ma quando la concentrazione di questo raggiunga 0,2 °/₀; di più la precipitazione è incompleta ed avviene solo in soluzione acida; in soluzione neutra il nucleoproteide precipita solo in traccie ed in soluzione alcalina non precipita affatto. Questo spiega il metodo di separazione del nucleoistone dal nucleoproteide; la prima precipitazione con $Ca\,Cl_2$ trascina anche traccie di nucleoproteide, perchè fatta in soluzione neutra; ridisciolto il precipitato in acqua ammoniacale, il nucleoproteide non precipita più per aggiunta di $Ca\,Cl_2$ perchè in soluzione alcalina.

Secondo *Huiskamp* il nucleoistone è contenuto nel nucleo, il nucleoproteide nel citoplasma; questa induzione è suffragata da un lato dal comportamento del nucleo di fronte al $Ca\,Cl_2$ in varia concentrazione, dall'altro dalle diverse proporzioni in cui dal timo si possono ricavare le due sostanze a seconda del tempo e della quantità in cui si fa agire l'acqua sull'organo triturato.

Tanto il nucleoistone quanto il nucleoproteide fanno coagulare il fibrinogeno, quando si aggiunga il cloruro calcico nella stessa concentrazione che è necessaria per dare la combinazione calcica del nucleoistone, rispettivamente del nucleoproteide.

Da ciò deduce l'autore che il nucleoistone ed il nucleoproteide di timo sono gli zimogeni del fibrinfermento, il quale non è che la combinazione calcica dello zimogeno.

L'azione biochimica dei nucleoproteidi è stata anche studiata da *Bottazzi* (8). Egli preparò dalla milza e dal fegato i

nucleoproteidi precipitandoli dall'estratto acquoso degli organi mediante acido acetico diluito. I nucleoproteidi di milza e di fegato sciolti in carbonato sodico a 0,25 °/₀ mettevano in libertà il $CO_2$, mescolati con ossiemoglobina trasformavano questa in un pigmento brunastro, che si decolorava in processo di tempo; i nucleoproteidi di fegato poi presentavano anche un'azione diastatica sul glicogeno; mai però *Bottazzi* riescì a dimostrare la trasformazione del glucosio in glicogeno per azione dei nucleoproteidi di fegato.

Le nostre ricerche furono iniziate anteriormente alla comparsa del lavoro di *Huiskamp* e avevano per iscopo di studiare se l'azione biochimica dei nucleoproteidi fosse un'azione generale di queste sostanze o se fosse specifica per ciascun nucleoproteide e fosse in relazione con la funzione dell'organo da cui era estratto. Le esperienze fatte anteriormente alla conoscenza del lavoro di *Huiskamp* furono eseguite su sostanze preparate col metodo di *Wooldridge*, con il quale *Lilienfeld* aveva preparato il suo nucleoistone e *Bottazzi* i suoi nucleoproteidi. Ma dopo le ricerche di *Huiskamp* abbiamo voluto esaminare se non si potevano scindere i supposti nucleoproteidi da noi presi in considerazione, oltre a quelli di timo, cioè quelli di rene e quelli di fegato, in un nucleoistone e in un nucleoproteide. *Ivar Bang* (9) aveva veramente già ricercato nel rene e nel fegato, come nel pancreas e nei testicoli, l'istone ma con esito negativo. Per tale ricerca egli estraeva l'organo con HCl a 0,5-0,8 °/₀ e cercava nel liquido l'istone mediante l'aggiunta di ammoniaca. Noi abbiamo invece adoperato il metodo di *Huiskamp*, abbiamo cioè trattato l'estratto acquoso di rene di bue e di fegato di bue o di cane colla soluzione di $CaCl_2$, ed ottenuto così un primo precipitato, l'abbiamo sciolto con acqua ammoniacale e poi riprecipitato con altro $CaCl_2$. Questo precipitato digerito per 24 ore con una soluzione di HCl a 0,8 °/₀ lascia un residuo indisciolto, che bollito con una soluzione al 5 °/₀ di $H_2SO_4$ si scioglie e dà con nitrato d'argento ammoniacale un precipitato della combinazione argentica delle basi puriniche; il residuo stesso dà le reazioni delle sostanze proteiche ed è perciò una nucleina. Nell'acido

cloridrico resta disciolta una sostanza che precipita per aggiunta di ammoniaca ed è un istone. La sostanza precipitata da $CaCl_2$ è dunque un nucleoistone. Dall'estratto acquoso degli organi, così privati del nucleoistone, abbiamo precipitato un nucleoproteide per aggiunta di acido acetico. Così abbiamo potuto dimostrare che nell'estratto acquoso di fegato e di rene, come in quello di timo esistono due sostanze che precipitano per aggiunta di acido acetico diluito, un nucleoistone cioè ed un nucleoproteide.

Il fatto che *Bang* non riescì ad isolare dal fegato e dal rene l'istone, mentre i nostri resultati sono perfettamente opposti, si può spiegare ammettendo, che i nucleoistoni trovandosi nel nucleo erano dapprincipio difesi dall'azione dell'acido cloridrico per opera del citoplasma, mentre poscia, formandosi dalle altre sostanze proteiche con l'acido cloridrico le acidoalbumine, il titolo della soluzione acida si abbassava tanto da non potere più scindere il nucleoistone in nucleina e in istone.

La dimostrazione della presenza del nucleoistone e del nucleoproteide nel rene e nel fegato ci ha indotto a ricercare a quale delle due sostanze si debbano ascrivere le azioni biochimiche che erano state dimostrate per il miscuglio di nucleoistoni e di nucleoproteidi. Abbiamo perciò ripetute separatamente sui nucleoistoni e sui nucleoproteidi di ciascuno dei tre organi presi in esame (timo, rene e fegato) le esperienze prima fatte sul miscuglio delle due sostanze e che avevano avuto esito positivo. Naturalmente quelle con esito negativo abbiamo ritenuto inutile di ripetere. Abbiamo prima ripetute per il rene e per il timo le esperienze fatte da *Bottazzi* sul fegato e le abbiamo anche ripetute separatamente sul nucleoistone e sul nucleoproteide di quest'organo. Cominciamo a riferire le esperienze sull'azione dei nucleoproteidi e dei nucleoistoni sul carbonato sodico, avvertendo che abbiamo sempre adoperata la combinazione calcica del nucleoistone.

Ad una determinata quantità della sostanza da saggiare si aggiunge una soluzione di 0,25–0,50 % di carbonato sodico; in questa si ha la soluzione completa del nucleoproteide

e una soluzione molto incompieta del Ca-nucleoistone. Il liquido si pone in una boccia di *Wolff*, che si tiene a bagnomaria a 37° e che si fa attraversare da una corrente di aria privata di $CO^2$ mediante una soluzione di KOH. L'aria che esce dalla boccia attraversa una soluzione di barite; tra la boccia di *Wolff* e quella di barite si intercala un'altra boccia di lavaggio vuota, per evitare che il carbonato sodico possa spruzzare nella barite.

Riportiamo qui a titolo d'esempio alcune esperienze sui Ca-nucleoistoni.

*Ca-nucleistone di timo.* — Ore 15,5. — A 10 cmc. di nucleoistone si aggiungono 50 cmc. di soluzione all'1 per cento di $Na^2CO^3$ ed acqua distillata fino a 100 cmc.; si riscalda a 37°. Dopo un'ora l'intorbidamento della barite è molto notevole.

*Ca-nucleistone di fegato.* — Ore 14,50 — A 10 cmc. di nucleistone di fegato si aggiungono 25 cmc. di soluzione all'1 per cento di $Na^2CO^3$ ed acqua distillata fino a 100 cmc.; si riscalda a 37°.

Ore 18,45. — La barite è molto torbida.

*Ca-nucleistone di rene.* — La stessa esperienza condotta parallelamente alla precedente. Gli stessi risultati.

Riportiamo ora un'esperienza con i nucleoproteidi.

*Nucleoproteidi di timo.* — Ore 9,50. — A 50 cmc. di nucleoproteide sospeso in acqua si aggiungono 50 cmc. di soluzione all'1 per cento di $Na^2CO^3$. Si riscalda a 37°.

Ore 11. — La barite è fortemente torbida.

*Nucleoproteidi di rene e di fegato.* — Le stesse esperienze con gli stessi risultati.

Queste esperienze dimostrano che tanto i nucleoproteidi quanto i nucleoistoni hanno un'azione acida. I nucleoproteidi sciolti in $Na^2CO^3$ entrano probabilmente in combinazione sodica liberando il $CO^2$, mentre il Ca-nucleoistone entra in combinazione sodica mettendo in parte in libertà il $CO^2$ e in parte fissandolo al calcio. Difatti nelle esperienze con i nucleoproteidi l'intorbidamento è più rapido che nelle esperienze con i Ca-nucleoistoni.

Un'altra esperienza fatta da *Bottazzi* si riferiva all'azione

sull'emoglobina. Abbiamo ripetute queste esperienze sui nucleoproteidi e sui Ca-nucleoistoni di fegato, timo e rene.

Alla soluzione in $Na^2CO^3$ di 0,25–0,50 per cento del nucleoproteide o del nucleoistone — dunque alla loro combinazione con il metallo alcalino — si aggiunge emoglobina fino alla comparsa delle due strie d'assorbimento, o fino alla fusione di queste in un'unica larga fascia. Si riscalda a 37° e si fa gorgogliare aria attraverso il miscuglio per impedire la riduzione dell'emoglobina. Di tempo in tempo se ne preleva un saggio per constatare allo spettroscopio la presenza o la scomparsa delle strie d'assorbimento.

Riportiamo qui dal giornale alcune di queste esperienze.

A 10 cmc. di nucleoistone di fegato si aggiungono 25 cmc. di soluzione all'1 per cento di $Na^2CO^3$, una soluzione di emoglobina e si porta il tutto a 100 cmc. con acqua distillata. Le strie sono evidenti. Dopo 4 ore le strie sono immutate.

Con i nucleoistoni di rene e di timo i risultati sono identici, anche se l'esperienza dura 18 ore.

Risulta perciò che i nucleoistoni di rene, di fegato e di timo sono incapaci di distruggere l'emoglobina.

Invece i nucleoproteidi danno risultati ben diversi. Riportiamo qui un'esperienza come esempio.

A 50 cmc. di nucleoproteidi di timo sospesi in acqua acidulata si aggiungono 50 cmc. di soluzione all'1 per cento di $Na^2CO^3$; i nucleoproteidi si disciolgono completamente; si aggiunge emoglobina finchè le strie d'assorbimento sono marcatissime. Dopo un'ora e dieci minuti le strie sono molto indebolite; dopo un'ora e cinquanta minuti sono scomparse del tutto.

Le esperienze fatte con i nucleoproteidi di rene e di fegato hanno dati gli stessi risultati. Da ciò si deve concludere che i nucleoproteidi soli hanno un'azione distruggitrice sull'emoglobina, azione che manca ai nucleoistoni e che non è specifica per i nucleoproteidi di un organo, ma è comune a parecchi organi.

Le ricerche sull'azione diastatica sul glicogeno furono eseguite per il rene ed il timo sul miscuglio di nucleopro-

teidi e di nucleoistoni. Il metodo analitico prescelto per dosare il glicogeno è stato quello di *Pflueger* e *Nerking* (10) che sembra essere il più esatto di quanti possediamo attualmente. Una quantità esattamente pesata di glicogeno, di cui si dosano a parte le ceneri, si mescola con la soluzione della sostanza da saggiare. Si riscalda a 37° ed alla fine dell'esperienza si fa bollire il miscuglio dopo l'aggiunta di KOH nella proporzione del 3 °/₀; il liquido torbido si filtra attraverso l'amianto ed il filtrato limpidissimo si porta ad un volume determinato in un pallone graduato. A 100 cmc. del liquido si aggiunge tanta soluzione concentrata di KOH che il suo titolo raggiunga esattamente il 3 °|₀ ed inoltre 10 grammi di CJ e 50 cmc. di alcool a 96. Precipita così il glicogeno che si raccoglie con rapidità su un filtro, evitando ogni evaporazione dell'alcool. Il glicogeno si lava due volte con un liquido composto di 100 cmc. di acqua, 50 di alcool a 96,3 grammi di KOH e 10 grammi di KJ; due volte con alcool a 66 contenente traccie di cloruro sodico (0,25: 3000). Il filtro contenente il glicogeno si lava ripetutamente con HCl al 2,2 °/₀ che si raccoglie in un palloncino graduato da 100 cmc. Il lavaggio si deve continuare fino a che il glicogeno sia sciolto tutto e passato completamente nel palloncino, il che si riconosce quando il liquido di lavaggio non si intorbida per l'aggiunta di alcool. Con l'ebollizione prolungata si trasforma il gligogeno in glucosio; dopo il raffreddamento si riempie con la stessa soluzione di HCl il palloncino fino al segno e in 25 cmc. della soluzione si dosa il glucosio col metodo di *Pflueger* (11) pesando il rame ridotto dopo averlo trasformato in ossido (¹).

Riportiamo qui un'esperienza eseguita sul miscuglio dei nucleoistoni e dei nucleoproteidi di timo.

*31 maggio 1901.* — A 50 cmc. di soluzione di miscuglio di nucleoistoni e di nucleoproteidi di timo in $Na_2CO_3$ al 0,25 per cento si aggiungono grammi 0,2049 di glicogeno privo di ceneri. Si porta alla tempe-

(¹) Per i metodi di *Pflueger* per il dosaggio del glucosio rimandiamo alla memoria originale. Così pure per tutti i particolari del dosaggio del glicogeno si consulti la memoria di *Pflueger* e *Nerking*.

ratura di 38° e si lascia a bagno-maria fino al 3 giugno a ore 12. Durata dell'esperienza 68 ore. Si tratta il liquido secondo il metodo descritto.

Cu ridotto dal glucosio grammi 0,4512 pari a glucosio grammi 0,2217 che corrispondono a grammi 0,2007 di glicogeno.

Essendo la quantità iniziale di glicogeno di 0,2049 grammi, la perdita è di grammi 0,0042 cioè del 0,2 %. Data l'estrema difficoltà dei metodi per la ricerca quantitativa del glicogeno, la perdita rientra nei limiti d'errore inevitabili, anzi è al disotto dei limiti d'errore constatati da *Pflueger* e *Nerking*. Si può perciò asserire, che il glicogeno non è stato attaccato dal miscuglio dei nucleoistoni e dei nucleoproteidi di timo. Le altre esperienze fatte con le stesse sostanze e con quelle estratte dal rene hanno dato risultati eguali. Per questi risultati negativi abbiamo ritenuto inutile ripetere le esperienze stesse sui nucleoproteidi e sui nucleoistoni separatamente.

Abbiamo invece eseguite le stesse esperienze sui nucleoistoni e sui nucleoproteidi di fegato. Riportiamo un esempio di ciascuno dei due ordini di esperienze.

A 25 cmc. di poltiglia di nucleoistone si aggiungono 25 cmc. di $Na_2CO_3$ in soluzione all'1 per cento e 50 cmc. d'acqua, quindi 1,2650 grammi di glicogeno. Si riscalda a 37° e si fa durare l'esperienza 72 ore. Alla fine dell'esperienza il glicogeno è completamente scomparso dalla soluzione.

A 25 cmc. di poltiglia di nucleoproteide si aggiungono 25 cmc. di soluzione all'1 per cento di $Na_2CO_3$, 50 cmc. di acqua e grammi 1,141 di glicogeno; si riscalda a 37°. Durata dell'esperienza 72 ore. Alla fine dell'esperienza il liquido si porta a 200 cmc. In 100 di questi si precipita il glicogeno. Si scioglie in 100 cmc. di soluzione di HCl. Su 25 cmc. di questa si dosa il glucosio formatosi; il dosaggio si fa perciò sull'ottava parte del liquido iniziale.

Cu ridotto grammi 0,0734, pari a glucosio grammi 0,0335, pari a glicogeno grammi 0,0288. Glicogeno totale grammi 0,2264; perdita gr. 0,9146 cioè dell'80,15 per cento.

Le altre esperienze hanno dato uguali risultati. Noi dobbiamo perciò concludere che, mentre tanto il nucleoistone quanto il nucleoproteide di fegato distruggono il glicogeno, nè i nucleoistoni nè i nucleoproteidi di rene e di timo hanno

questa proprietà; questa è perciò specifica per i soli nucleo-istoni e nucleoproteidi di fegato.

Mentre noi avevamo già scritta la nota preliminare su queste esperienze, nota che comunicammo alla R. Accademia di medicina di Torino (12), comparve una breve nota di *Gerard* (13) in cui egli riferisce che l'estratto acquoso di rene ha la proprietà di trasformare il glicogene in glucosio, il guiacolo in pirocatechina, l'acido ossalurico in ossalico, il lattosio in glucosio e in galattosio. Con alcool si precipita una sostanza che ridisciolta in acqua ha le stesse proprietà dell'estratto acquoso. Che cosa sia veramente questa sostanza dotata di tale potere idrolitico l'autore non ha ricercato, nè si sa se si tratti di una sola o di più sostanze. In ogni modo noi possiamo asserire, almeno per quanto riguarda il glicogeno, che non si tratta nè del nucleoistone nè del nucleoproteide di rene.

Dalle esperienze fino ad ora riferite ci sembra si possa dedurre, che l'azione biochimica dei nucleoproteidi e dei nucleoistoni è specifica, quando è specifica per l'organo da cui provengono la funzione metabolica corrispondente, mentre è generale quando la funzione metabolica corrispondente è propria di vari organi. E accettando l'opinione fondata che i nucleoistoni rappresentino la parte sostanziale del nucleo, i nucleoproteidi quella del citoplasma, si potrà dire che l'azione catalitica del nucleoistone è l'esponente della funzione metabolica estrinseca del nucleo, quella del nucleoproteide è l'esponente della funzione analoga del citoplasma. Imperocchè a noi sembra che si debbano distinguere due forme di metabolismo in ciascun elemento; in primo luogo quei processi anabolici e catabolici in cui si ha la formazione e la distruzione della sostanza proteica vivente. Questo, che vorremmo chiamare il metabolismo intrinseco della cellula, determina l'accrescimento, la riproduzione, la reintegrazione dell'elemento nei processi anabolici e la funzione specifica sua nei processi catabolici. D'altro canto le cellule esercitano un'azione chimica anche sulle sostanze che con esse vengono a contatto, ma che non entrano a far parte del protoplasma vivente. Tali

sono appunto le azioni biochimiche che andiamo studiando, tali l'azione del fegato sul glicogeno, e sul glucosio. Questa azione che la cellula esercita sulle sostanze ad essa estranee si può chiamare metabolismo estrinseco. Su questo argomento ritorneremo ancora.

Riferiamo ora alcune altre esperienze fatte sui nucleoproteidi e sui nucleoistoni.

Abbiamo voluto studiare se queste sostanze sono capaci di trasformare analogamente a quanto avviene nell'organismo, il carbammato ammonico in urea. Per ricercare l'urea eventualmente formatasi ci servimmo del metodo di *Drechsel* (14) che consiste essenzialmente nell'estrarre due volte la sostanza con alcool assoluto, precipitare con etere acetico, filtrare e fare cristallizzare dal filtrato l'urea. Qui riportiamo una di queste esperienze.

*Ore 15,20.* — A 100 cmc. di soluzione a 0,25 per cento di $Na_2CO_3$ e 10 cmc. di poltiglia di Ca-nucleoistone di rene si aggiungono 2 grammi di carbammato ammonico (*Merck*), che però contiene già in piccola parte ammoniaca e carbonato ammonico liberi. Si riscalda a 37° e si fa attraversare il liquido da una corrente d'aria. Durata dell'esperienza 24 ore. La ricerca dell'urea riesce negativa.

La stessa esperienza ripetuta sulla stessa sostanza e sul nucleoproteide di rene, nonchè sul nucleoistone e sul nucleoproteide di fegato, ha dato sempre lo stesso risultato negativo. Perciò abbiamo ritenuto inutile ripetere l'esperienza anche sul timo.

Nel dubbio che tale esito negativo potesse dipendere dal fatto che per un potere ureolitico di queste sostanze, l'urea che eventualmente si fosse formata dal carbammato ammonico potesse essere decomposta, abbiamo aggiunto due grammi di urea alle soluzioni delle sostanze da noi saggiate e abbiamo dosata l'urea dopo avere lasciata la soluzione per 18 ore circa a 37°. La quantità d'urea rimase invariata. Si deve perciò concludere che il processo della formazione dell'urea dal carbammato d'ammonio, processo che consiste in una successione di ossidazioni e di riduzioni, non può essere determinato nè dai nucleoistoni nè dai nucleoproteidi di fegato e di rene.

Un'altra azione catalitica che abbiamo voluto saggiare è quella glicolitica. I risultati ottenuti sono in parte molto inattesi e meritano un attento esame. Riportiamo qui un'esperienza sull'azione glicolitica di ciascuna delle sei sostanze da noi studiate, avvertendo che per ogni sostanza i risultati di tutte le esperienze sono stati sempre costanti. Lo svolgimento delle esperienze è sempre stato lo stesso. La sostanza da saggiare si scioglie (in tutto o in parte) in una soluzione di $Na_2CO_3$ a 0,25 % e si aggiunge il glucosio. Del miscuglio si prendono 25 cmc. che si dealbuminizzano mediante l'ebollizione con poche goccie d'acido acetico. Del liquido filtrato e portato a 200 cmc. si prendono 25 cmc. e in questi si dosa il glucosio con il metodo di *Pflueger*, dopo avere neutralizzata la soluzione acida. Il resto del liquido iniziale è tenuto a bagno-maria a 37° per un tempo variabile, facendovi passare o no una corrente d'aria. Alla fine dell'esperienza si prelevano altri 25 cmc. per la ricerca del glucosio.

*Nucleoistone di rene.* — A 20 cmc. di poltiglia di nucleoistone di rene si aggiungono 50 cmc. di soluzione all'1 per cento di $Na_2CO_3$, 130 cmc. di acqua e circa 4 grammi di glucosio: il tutto si fa attraversare da una corrente d'aria e si porta a 37°. Durata dell'esperienza 24 ore.

Prima dell'esperienza. — Cu ridotto da 25 cmc. della soluzione diluita otto volte grammi 0,2505, pari a glucosio grammi 0,119, quindi la soluzione contiene per cento 0,4768 di glucosio e la soluzione iniziale ne contiene 3,8144 per cento.

Dopo l'esperienza. — Cu ridotto grammi 0,2515, pari a glucosio grammi 0,119.

Non si ha quindi nessuna perdita e il nucleoistone di rene non ha nessun potere glicolitico.

*Nucleoistone di timo.* — Esperienza eseguita nelle stesse condizioni della precedente. Durata 27 ore.

Prima dell'esperienza. — In 25 cmc. della soluzione diluita glucosio grammi 0,0336, glucosio per cento di soluzione 0,1344, nella soluzione iniziale glucosio per cento 1,0752.

Dopo l'esperienza. — In 25 cmc. della soluzione diluita glucosio grammi 0,0338, glucosio per cento di soluzione 0,1352, glucosio per cento nella soluzione iniziale 1,0816.

Anche qui durante l'esperienza non si ha nessuna perdita di glucosio e perciò anche il nucleoistone di timo non ha nessun potere glicolitico.

*Nucleoistone di fegato.* — Esperienza nelle stesse condizioni delle precedenti. Durata 28 ore.

Prima della esperienza. — In 25 cmc. della soluzione diluita glucosio grammi 0,0443, glucosio per cento di soluzione 0,1772, glucosio per cento nella soluzione iniziale 1,4176.

Dopo l'esperienza. — In 25 cmc. della soluzione diluita glucosio grammi 0,0244, glucosio per cento di soluzione 0,0976, glucosio per cento nella soluzione iniziale 0,7808.

Qui si ha una perdita molto notevole di glucosio e cioè di gr. 0,6368 su 100 cmc. di soluzione corrispondente ad una perdita del 44,92 per cento di glucosio. In altri casi in cui la quantità di glucosio messa a reagire era maggiore la perdita percentuale è stata minore (per esempio 11,62 per cento pur essendo presso a poco costante la perdita assoluta di glucosio. Pare perciò — ma questa supposizione va appurata con esperienze apposite a ciò dirette — che la quantità di glucosio messa a reagire non abbia influenza sull'intensità della reazione.

I nucleoistoni di fegato, a differenza di quelli di rene e di timo hanno dunque un forte potere glicolitico.

Passiamo ora allo studio dei nucleoproteidi.

*Nucleoproteide di fegato.* — Esperienza nelle stesse condizioni delle precedenti. Durata 24 ore.

Prima dell'esperienza. — In 25 cmc. della soluzione diluita glucosio grammi 0,0274, glucosio per cento di soluzione 0,1096, glucosio per cento della soluzione iniziale 0,8768.

Dopo l'esperienza. — In 25 cmc. della soluzione diluita glucosio grammi 0,0269, glucosio per cento di soluzione 0,1076, glucosio per cento della soluzione iniziale 0 8608.

La perdita di glucosio importa perciò grammi 0,016 su 100 cmc. di soluzione e l'1 per cento sul glucosio totale. Le altre esperienze diedero valori analoghi. Si resta perciò incerti se si tratti in questo caso di un vero potere glicolitico, oppure se queste differenze non dipendano da un altro fatto. È noto cioè che l'azione catalitica di una sostanza non consiste nella sua proprietà di determinare un processo chimico, ma nella proprietà di accelerarlo (rispettivamente di ritardarlo), perchè il processo si svolge anche senza il catalizzatore, ma tanto lentamente che in pratica si sottrae all'osservazione se l'esperienza non dura molto a lungo. Si potrebbe perciò ammettere che la leggera perdita di glucosio sia dovuto alla fermentazione spontanea, non dovuta alla presenza del catalizzatore, ma accelerata dalla temperatura. Senonchè si può obbiettare che nelle esperienze con i nucleoistoni di rene e di timo non si era avuta nessuna distruzione di glucosio, pur essendo eguali le altre condizioni. Infine la perdita di glucosio si potrebbe anche attribuire ad una

eventuale presenza di poco nucleoistone incompletamente precipitato dal $Ca\,Cl^2$. In ogni modo rimane dubbio se il nucleoproteide di fegato sia dotato di potere glicolitico ed in ogni caso questo potere è molto piccolo in confronto a quello del nucleoistone corrispondente.

*Nucleoproteide di rene.* – Durata dell'esperienza 24 ore.

Prima dell'esperienza. — In 25 cmc. di soluzione diluita glucosio grammi 0,0705, glucosio per cento di soluzione 0,2820, glucosio per cento della soluzione iniziale 2,2560.

Dopo l'esperienza. — In 25 cmc. di soluzione diluita glucosio 0,0542, glucosio per cento di soluzione 0,2168, glucosio per cento della soluzione iniziale 1,7344.

La perdita di glucosio importa perciò gr. 0,5216 per cento di soluzione, cioè il 23.12 per cento sul glucosio totale. Il nucleoproteide di rene è perciò dotato di potere glicolitico.

*Nucleoproteide di timo.* — Durata dell'esperienza 72 ore.

Prima dell'esperienza. — In 25 cmc. della soluzione diluita glucosio grammi 0,0778, glucosio per cento di soluzione 0,3112, glucosio per cento della soluzione iniziale 2,4896.

Dopo l'esperienza. — In 25 cmc. della soluzione diluita glucosio grammi 0,0669, glucosio per cento di soluzione 0,2676, glucosio per cento della soluzione iniziale 2,1408.

La perdita di glucosio importa qui grammi 0,3488 per 100 cmc. di soluzione e il 14,01 sul glucosio totale.

Anche i nucleoproteidi di timo hanno perciò un potere glicolitico, ma poco notevole, tanto più se si tiene conto della maggior durata delle esperienze.

Da questa ultima seria di esperienze si deve concludere che i nucleoistoni di timo e di rene non hanno alcun potere glicolitico; questo è minimo o nullo nel nucleoproteide di fegato, un poco maggiore in quello di timo, ancora maggiore in quello di rene e massimo nel nucleoistone di fegato. Per la diversa disposizione nel nucleo e nel citoplasma delle due sostanze si deve dedurre che il nucleo delle cellule epatiche è dotato di un forte potere glicolitico, mentre il loro citoplasma ne è sprovveduto o quasi; invece nel timo e nel rene si ha il fatto opposto. E perciò dovremo concludere che tanto il nucleo quanto il citoplasma possono prendere parte non solo al metabolismo intrinseco della cellula, come è già dimostrato da molto tempo, ma anche a quello estrinseco; la loro partecipazione ai vari processi però è diversa.

Mentre tanto il nucleo che il citoplasma della cellula epatica distruggono il glicogeno, solo il nucleo distrugge il glucosio e solo il citoplasma distrugge l'emoglobina e prepara così il materiale al metabolismo intimo della cellula stessa. L'azione distruggitrice sull'emoglobina è però esercitata sebbene in misura minore, anche dal citoplasma delle cellule del rene e del timo, senza che il nucleo partecipi mai a questo processo. È logico supporre perciò che tutte le cellule dell'organismo partecipino in modo maggiore o minore alla distruzione dell'emoglobina e così al disfacimento dei corpuscoli rossi. L'azione distruggitrice del glicogeno è limitata, come si è detto, al fegato; quella glicolitica esiste anche in piccola proporzione nel timo, in proporzione maggiore nel rene, ma, tanto in un caso che nell'altro, è il solo citoplasma che è deputato a questa funzione.

Qui fa d'uopo avvertire che le azioni catalitiche da noi studiate non possono attribuirsi nè a sostanze contenute nel sangue, perchè l'organo prima di venire estratto con acqua, veniva liberato dal sangue con una soluzione all' 1 $^0/_0$ di NaCl, nè ad impurità delle sostanze esaminate, perchè queste sono sempre state purificate con la doppia precipitazione e con lunghi lavaggi con soluzione fisiologica e con acqua acidulata.

Perciò si può ben concludere che le azioni catalitiche che si esercitano nell'organismo non sono sempre dovute ad enzimi prodotti dalla cellula vivente, ma sono anche proprie della compagine chimica stessa che costituisce il protoplasma vivente.

Abbiamo voluto anche esaminare se l'azione catalitica dei nucleoproteidi si esercita solo in soluzione o anche in sospensione. Queste ricerche sono state fatte solo per i nucleoproteidi di fegato e solo per la distruzione dell'emoglobina. Riportiamo una di queste esperienze.

I nucleoproteidi si trovano in sospensione in una soluzione all' 1 $^0/_0$ di NaCl; si aggiunge emoglobina fino a che le strie sono evidentissime. Dopo 40 minuti le strie sono scomparse.

Per ultimo abbiamo voluto vedere se l'alcool assoluto, il

cloroformio ed il sublimato corrosivo abbiano qualche influenza sull'azione dei nucleoproteidi di fegato sull'emoglobina. Riportiamo un'esperienza per ciascuna sostanza.

Alcool assoluto. Il nucleoproteide di fegato si tratta con alcool assoluto per 24 ore. I nucleoproteidi lavati si sospendono in acqua con aggiunta di emoglobina. Dopo 35 minuti di esperienza le strie sono quasi scomparse; dopo un'ora e mezzo sono scomparse del tutto.

Bicloruro di mercurio. I nucleoproteidi sono trattati in un mortaio con sublimato all' 1 $^0/_0$, quindi versati in un becher. Si lava per decantazione con acqua acidulata fino alla scomparsa completa del $HgCl_2$ dal liquido di lavaggio. Si sospendono in acqua e emoglobina. Le strie scompaiono dopo un'ora.

Cloroformio. I nucleoproteidi sono trattati con cloroformio in un mortaio, poi asciugati con carta da filtro. Si sospendono in acqua con emoglobina. Le strie scompaiono in 2 ore.

Da queste esperienze risulta che nè l'alcool, nè il sublimato, nè il cloroformio ostacolano l'azione distruggitrice sull'emoglobina nei nucleoproteidi di fegato.

Le esperienze da noi qui riferite e che dimostrano la diversa azione chimica che i vari nucleoistoni e nucleoproteidi esercitano, pongono alcuni nuovi quesiti, che qui vogliamo accennare. Dobbiamo domandarci in primo luogo se queste azioni sono proprie dei nucleoistoni e dei nucleoproteidi o dei loro sali con i metalli, se cioè essi corrispondono a uno zimogeno o ad un enzima. Nelle esperienze da noi fatte essi si trovano sempre in combinazione sodica; solo nelle esperienze con l'alcool e con il cloroformio i nucleoproteidi di fegato erano sospesi in acqua. Perciò almeno per l'azione sull'emoglobina i nucleoproteidi di fegato corrispondono ad un enzima e non ad uno zimogeno. Quanto alle altre azioni nessuna induzione è possibile di fare ed il problema resta aperto.

Un altro problema da studiare è il rapporto che corre tra la composizione chimica e le azioni catalitiche dei singoli nucleistoni e nucleoproteidi e in primo luogo se essi rappresentino delle vere individualità chimiche o se risultino dal miscuglio di varie sostanze.

Infine importerebbe studiare quantitativamente le varie azioni catalitiche esercitate da questi corpi, sia in rapporto alla concentrazione loro e a quella del corpo scomposto, sia in rapporto alla temperatura ed alla durata dell'esperimento.

Ci riserbiamo di ritornare in avvenire su qualcuno di questi problemi per la cui soluzione occorrerebbe la cooperazione di molti sperimentatori.

Torino 18 luglio 1902.

## Bibliografia.


1. L. Lilienfeld, Ueber Leucocyten und Blutgerinnung. Verh. der physiol. Gesellschaft in Berlin, 8 April. (Arch. f. Anat. und Physiol., Physiol. Abth., 1892).
2. Lo stesso, Ueber den flüssigen Zustand und die Blutgerinnung. Verh. der physiol. Gesellschaft in Berlin 22 Juli. (Ibidem, 1892).
3. Lo stesso, Zur Chemie der Leucocyten. (Zeitschrift f. physiol. Chemie, XVIII, S. 478, 1893).
4. Pekelharing, Studien ueber Blutgerinnung. (Amsterdam, 1893).
5. W. Huiskamp, Ueber die Eiweisskörper der Thymusdrüse. (Zeitschrift f. physiol. Chemie, XXXII, S. 145, 1901).
6. A. Fleroff, Ueber einen histonähnlichen Körper aus Thymus. (Ibidem, XXVIII, S. 307, 1899).
7. F. Malengreau, Deux nucléoalbumines et deux histones dans le thymus. (La Cellule, XVII, pag. 339, 1900).
8. F. Bottazzi, Ricerche sui nucleoproteidi. (Atti della R. Accademia dei Lincei, 1898).
9. I. Bang, Studien ueber Histon. (Zeitschrift f. physiol. Chemie, XXVII, S. 463, 1898).
10. E. Pflüger u. W. Nerking, Eine neue Methode zur Bestimmung des Glykogens. (Pflüger's Archiv, Bd. 79).
11. E. Pflüger. Ueber die Bestimmung des Traubenzuckers. (Pflüger's Archiv, Bd. 69).
12. Herlitzka e Borrino, Ricerche sull'azione chimico-fisiologica dei nucleoproteidi e dei nucleoistoni. (Giornale della R. Accademia di Medicina di Torino, seduta del 13 giugno 1902).
13. E. Gérard, Action biochimique de l'extrait de rein lavé sur certaines composés organiques. (Compt. rend., T. CXXXIV. pag. 1248, 26 Mai 1902).
14. E. Drechsel (Arch. f. Anat. u. Physiol., Physiol. Abth., 1880).


Domenico Cesare Bartolini, *Responsabile.*

# INDICE

Azzurrini Dott. F., Contributo allo studio delle alterazioni spleniche nella cirrosi epatica. (Con 3 tavole in cromolitografia). ... Pag. 597
Beccari Dott. L., Sui composti organici di ferro del fegato. – Nota... 412
Biondi Dott. C., Contributo allo studio della fauna cadaverica..... 53
Borri Prof. L., Contributo alla conoscenza del processo di saponificazione dei cadaveri. (Con 2 incisioni in legno)..... 84
Bottazzi Dott. F. e Pierallini Dott. G., Contributi alla conoscenza della funzione dei reni — Ricerche..... ..... 181
Colzi Prof. F., Contributo alle lesioni prodotte dal fungo raggiato. (Con 4 tavole in cromolitografia)..... ..... 264
Coronedi Dott. G. e Marchetti Dott. G., Ricerche farmacologiche sul bromo e nuovo contributo alla chimica fisiologica dei grassi. (Con una incisione in legno)..... ..... 311
Fasola Prof. G., Sulla peristaltica intestinale — Nuove ricerche sperimentali ..... 33
Fermi Prof. C. e Repetto R., Contributo alla diffusione degli enzimi proteolici del regno animale. — Ricerche..... 97
Foà Dott. G., Ricerche batteriologiche sul burro del mercato di Firenze. Alcuni bacilli pseudo-tubercolari ..... 518
Frizzoni Dott. U., Anemia splenica e leucemia. — Osservazioni..... 487
Galeotti Prof. G. e Zardo Dott. E., Su di un microrganismo patogeno isolato dal « Murex Bradatus ». — Contributo alla conoscenza delle infezioni alimentari..... 5
Galeotti Prof. G. e Todde C., Alterazioni istologiche provocate da soluzioni metalliche colloidali o elettroliticamente dissociate..... 341
Galeotti G., Ricerche su di un bacillo della setticemia emorragica dei bovini ..... ..... 545
Grandis Dott. V. e Vignau Dott. P. T., Ricerche sull'elettrolisi delle sostanze proteidi. — Studi. (Con 6 figure in zincotipia) ..... 216
Herlitzka Dott. A. e Borrino Angiola, Ricerche sull'azione biochimica di alcuni nucleoistoni e nucleoproteidi..... 656
Livini Dott. F., Il tipo normale e le variazioni dell'*A. carotis externa*. — Nota preliminare ..... ..... 423

Luzzatto Dott. R., Contributo allo studio biologico del vanadio in rapporto agli elementi più noti del V gruppo. (Con una tavola in litografia) ..... Pag. 136
Marchetti Dott. O., Alcune ricerche sulla composizione dei liquidi d'idrocele ..... 297
Persano Dott. E, Sull'azione del peptone del sangue della cavia e del rospo. — Contributo sperimentale allo studio della coagulazione del sangue ..... 363
Picchi Dott L., Contributo alla conoscenza della dermatomiosite. (Con 2 tavole in fototipia e 3 in cromolitografia) ..... 620
Pieraccini Dott. G., Granulazioni jodofile ed eosinofile. A proposito di alcune recentissime pubblicazioni sulle granulazioni jodofile. (Con 1 tavola in cromolitografia) ..... 641
Pugliese Dott A., Influenza del riscaldamento e delle sostanze alimentari sulla frequenza dei movimenti cardiaci negli animali digiunanti. — Studio critico sperimentale. (Con 2 incisioni in legno) ..... 111
Remedi Prof. V., Sui poteri antitossici della glandula tiroide. — Ricerche sperimentali ..... 500
Rendiconti delle Adunanze dell' Accademia Medico-fisica fiorentina ..... 161, 147, 556
Rotondi Dott. G., Sulla digestione del caseinogeno di donna e di mucca ..... 68
Strada Dott. F., Sopra alcuni casi di endocardite diplococcica del cuore destro dell'adulto. — Contributo allo studio delle endocarditi. Ricerche anatomiche e sperimentali ..... 241
Tiberti Dott. N., Sulle minute alterazioni del pancreas consecutive alla legatura del condotto di Wirsung. (Con una tavola in cromolitografia) ..... 397
Tiberti Dott. N., Intorno all'azione di un microrganismo patogeno isolato dal « Murex Brandaris » sui tessuti animali ..... 434

FF
IGDL 337